

**Univerzitet u Beogradu  
Farmaceutski fakultet**

Tanja Antunović

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

Biohemijski parametri oksidativnog, nutritivnog i inflamatornog statusa u predikciji mortaliteta kod pacijenata na hemodijalizi

Beograd, 2017.

**Univerzitet u Beogradu**  
**Farmaceutski fakultet**



Tanja Antunović

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

Biohemijski parametri oksidativnog, nutritivnog i inflamatornog statusa u predikciji mortaliteta kod pacijenata na hemodijalizi

Beograd, 2017.

Završni rad je urađen na Katedri za medicinsku biohemiju Univerziteta u Beogradu Farmaceutskog fakulteta i u Centru za kliničko laboratorijsku dijagnostiku i Klinici za nefrologiju Kliničkog centra Crne Gore.

Mentor

---

Prof. dr Marina Stojanov

Članovi komisije

1. \_\_\_\_\_

Doc. dr Aleksandra Stefanović

2. \_\_\_\_\_

Prof. dr Marina Ratković  
Univerzitet Crne Gore – Medicinski fakultet

Ocena završnog rada \_\_\_\_\_

Datum odbrane završnog rada \_\_\_\_\_

Veliku zahvalnost u izradi studije dugujem prije svega mentorki, prof. dr Marini Stojanov, zbog neizmjerne podrške i pomoći tokom kompletnog poslediplomskog usavršavanja, zatim kolegama i saradnicima sa Klinike za nefrologiju, Centra za kliničko laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog centra Crne Gore, kao i osoblju Katedre za medicinsku biohemiju Farmaceutskog fakulteta u Beogradu.

Porodici i prijateljima želim zahvaliti za inspiraciju, podršku i pomoć u svakom mom pregnuću.

## BIOHEMIJSKI PARAMETRI OKSIDATIVNOG, NUTRITIVNOG I INFLAMATORNOG STATUSA U PREDIKCIJI MORTALITETA KOD PACIJENATA NA HEMODIJALIZI

Mortalitet pacijenata na hemodijalizi (HD) je uprkos napretku nauke i dalje izuzetno visok. Vodeći uzročnici mortaliteta su kardiovaskularne bolesti (KVB) i infekcije. U ovoj studiji istraživana je potencijalna prediktivna sposobnost mortaliteta (opšteg i KVB) biohemijskih markera konvencionalnih faktora rizika za nastanak KVB (holesterol, trigliceridi, HDL- i LDL-holesterol, ApoAI, ApoB, homocistein i troponin I kao markera koronarne ishemije) i biomarkera, netradicionalnih faktora rizika povezanih sa uremijom i hemodijaliznim procesom. To su biomarkeri inflamacije (hsCRP, IL-6), oksidativnog stresa/antioksidativne zaštite (TAS, TOS, MDA, PAB, SOD, MPO, mokraćna kiselina) i nutritivnog statusa (albumin, transferin, prealbumin, RBP, BuChE, IGF-1 i IGFBP-3). Pacijentima su određene bazne vrijednosti svih parametara, a ishodi su praćeni tokom dvije godine.

U studiju je uključeno 79 pacijenata (39 muškaraca i 40 žena) prosječne starosti  $57,6 \pm 10,4$  godine. Karakteristike hemodijalizne terapije ustanovljene su na osnovu kT/V vrijednosti i URR. Pacijente smo podijelili u tri grupe: preživjeli, ukupan mortalitet i mortalitet usled KVB i testirali smo postojanje razlike u nivoima ispitivanih biomarkera između grupa. PAB je bio statistički značajno viši u obje grupe preminulih ( $p < 0,001$ ). hsCRP, IL-6, hsTnI su takođe bili statistički značajno viši kod svih preminulih ( $p < 0,001$ ), kao i kod umrlih usled KVB ( $p < 0,05$ ). Prealbumin je bio značajno niži u grupi opšteg mortaliteta ( $p < 0,001$ ) i u grupi KVB mortaliteta ( $p < 0,05$ ), dok su BuChE, albumin, RBP i IGF-1 bili statistički značajno niži u grupi opšteg mortaliteta ( $p < 0,05$ ), dok se značajnost u grupi KVB mortaliteta zadržala samo za BuChE i RBP ( $p < 0,05$ ). MPO i mokraćna kiselina su bili statistički značajno viši u obje grupe preminulih ( $p < 0,05$ ). Cox regresiona hazard analiza pokazala je da hsCRP, IL-6, PAB, prealbumin, hsTnI ( $p < 0,001$ ), albumin, RBP, IGF-1, mokraćna kiselina i BuChE imaju statistički značajan uticaj na opšti mortalitet ( $p < 0,05$ ). Statistički značajan uticaj na KVB mortalitet se zadržao za mokraćnu kiselinu, PAB, IL-6, prealbumin, RBP i hsTnI ( $p < 0,05$ ). Kaplan-Meierova (KM) analiza i log rank test pokazali su da postoji statistički značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti biomarkera u odnosu na opšti mortalitet i to za: mokraćnu kiselinu, hsCRP, IL-6, prealbumin, hsTnI ( $p < 0,001$ ), RBP, IGF-1, PAB, BuChE i albumin, ( $p < 0,05$ ). Statistički značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti biomarkera u odnosu na KVB mortalitet dokazana je za: mokraćnu kiselinu, hsCRP, IL-6, prealbumin, RBP i hsTnI ( $p < 0,05$ ). Testirana je kombinacija dva biomarkera, pokazatelja istih ili različitih patofizioloških procesa. KM analizom i hi-kvadrat testom utvrđena je statistički značajna razlika između grupa definisanih *cut-off* vrijednostima kako za opšti, tako i za KVB mortalitet.

Pacijenti umrli nakon dvije godine bili su u stanju intenzivnije hronične inflamacije i oksidativnog stresa, a njihov nutritivni status je bio lošiji u odnosu na preživjele. Kao najbolji prediktori mortaliteta u ovoj studiji pokazali su se IL-6, prealbumin, hsTnI koji se u našoj studiji pokazao kao dobar prediktor i KVB i opšteg mortaliteta; zatim mokraćna kiselina, rutinski biomarker, čiji se značaj u predikciji mortaliteta često zapostavlja i PAB, biomarker oksidativnog stresa koji je do sada nedovoljno istraživan. Kombinacija bilo koja dva statistički značajna biomarkera pokazala je veći potencijal u predikciji mortaliteta od pojedinačnih markera. PAB se u našoj studiji pokazao kao

najosetljiviji biomarker oksidativnog stresa. S obzirom da je ovaj biomarker do sada rijetko korišćen, njegov potencijal bi trebalo dokazati u budućim multicentričnim studijama sa većim brojem pacijenata.

**Ključne riječi:** hronična renalna insuficijencija, hemodijaliza, mortalitet, hsCRP, IL-6, prealbumin, albumin, RBP, IGF-1, BuChE, mokraćna kiselina, MPO, TAS, TOS, PAB, SOD, MDA, hsTnI

**Naučna oblast:** Medicinska biohemija

**UDK broj:** 616.61-008.6:616-036.8(043.3)

## BIOCHEMICAL MARKERS OF OXIDATIVE, NUTRITIVE AND INFLAMMATORY PROCESSES IN MORTALITY PREDICTION OF HEMODIALYSIS PATIENTS

Despite modern technology and the development of medicine, mortality levels for patients on hemodialysis (HD) continue to be high. The leading causes of death are cardiovascular diseases (CVD) and infections.

In this study, we investigated whether the levels of CVD conventional risk factors (cholesterol, triglycerides, HDL-, LDL-cholesterol, ApoAI, ApoB, homocystein, and hsTnI) and non-traditional factors like those related to uremia and hemodialysis patophysiological processes, could be predictors of mortality. These are markers of inflammation (hsCRP, IL-6), oxidative stress (TAS, TOS, MDA, PAB, SOD, MPO, uric acid) and nutrition (albumin, transferrin, prealbumin, RBP, BuChE, IGF-1, IGFBP-3). The basal values of all the parameters were recorded and the outcomes (both all-cause and CVD mortality) were monitored over two years.

In the study, 79 patients (39 men and 40 women), aged  $57.6 \pm 10.4$  years were enrolled. The adequacy of HD treatment was estimated through  $KT/V$  and URR. The patients were divided into three groups: survivors after two years, all-cause mortality and CVD mortality. PAB was statistically higher in both mortality groups ( $p < 0.001$ ). In addition, hsCRP, IL-6 and hsTnI were also higher in the all-cause ( $p < 0.001$ ) and CVD mortality ( $p < 0.05$ ) groups. Prealbumin was significantly lower in the all-cause ( $p < 0.001$ ), and in the CVD mortality group ( $p < 0.05$ ). BuChE, albumin, RBP and IGF-1 were lower in the all-cause mortality group ( $p < 0.05$ ), and the significance for CVD mortality remained only for BuChE and RBP (where  $p < 0.05$ ). MPO and uric acid levels were higher in both mortality groups ( $p < 0.05$ ). Cox regression hazard analysis shows a statistical significance after two years in the all-cause mortality patients for hsCRP, IL-6, PAB, prealbumin and hsTnI (at  $p < 0.001$ ), albumin, RBP, IGF-1, uric acid and BuChE (at  $p < 0.05$ ), and for CVD mortality for uric acid, PAB, IL-6, prealbumin, RBP and hsTnI (at  $p < 0.05$ ). Kaplan-Meier (KM) analysis and log-rank tests proved a statistically significant difference between groups defined by the parameter *cut-off* values in all-cause mortality for: uric acid, hsCRP, IL-6, prealbumin and hsTnI (at  $p < 0.001$ ) and RBP, IGF-1, PAB, BuChE and albumin, (at  $p < 0.05$ ). In CVD mortality, a significance was detected for: uric acid, hsCRP, IL-6, prealbumin, RBP and hsTnI (at  $p < 0.05$ ). A combination of two markers of the same or different patophysiological processes was tested. The Kaplan-Meier analysis and chi-square test showed statistically significant differences between groups for both all-cause and CVD mortality.

The deceased patients were more exposed to inflammation and oxidative stress compared to the survivors and they had a worse nutritional status. The most important biomarkers for mortality prediction in our study were: IL-6, prealbumin, uric acid, PAB and hsTnI. hsTnI was good predictor of both overall and CVD mortality. Uric acid is a routine biomarker whose significance in mortality prediction is undervalued. PAB is a rarely used oxidative stress biomarker.

Combinations of two biomarkers have a stronger mortality predictive power in comparison to single markers. In our study, PAB was the best oxidative stress biomarker with significant potential for mortality prediction. In order to prove this, we believe that such an investigation should be part of a multicentric study comprising of larger number of patients.

**Key words:** chronic kidney disease, hemodialysis, mortality, hsCRP, IL-6, prealbumin, albumin, RBP, IGF-1, BuChE, uric acid, MPO, TAS, TOS, PAB, SOD, MDA, hsTnI

**Scientific field:** Medical biochemistry

**UDC number:** 616.61-008.6:616-036.8(043.3)



# SADRŽAJ

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
1.1. BIOMARKERI .....	1
1.2. HRONIČNA RENALNA INSUFICIJENCIJA (HRI) .....	3
1.2.1. Uremija .....	4
1.2.2. Dijaliza.....	5
1.2.3. Morbiditet i mortalitet u ESRD.....	5
1.3. PROTEINSKO ENERGETSKI GUBITAK U HRI .....	6
1.4 INFLAMACIJA U HRI .....	10
1.4.1 Korekcija inflamacije u HRI .....	15
1.5 OKSIDATIVNI STRES U HRI.....	16
1.5.1 Mokraćna kiselina.....	17
1.5.2. Antioksidativna terapija u HRI i KVB .....	18
1.6 KARDIOVASKULARNE BOLESTI U HRI.....	22
<b>2. MATERIJALI I METODE.....</b>	<b>24</b>
2.1. ISPITANICI.....	24
2.2. KARAKTERISTIKE HEMODIJALIZNE TERAPIJE .....	25
2.3. ANTROPOMETRIJSKI PODACI .....	25
2.4. UZORCI.....	27
2.5. ODREĐIVANJE BIOHEMIJSKIH PARAMETARA .....	27
2.5.1. Određivanje TAS.....	28
2.5.2. Određivanje aktivnosti SOD u eritrocitima .....	28
2.5.3. Određivanje malon dialdehida (MDA) .....	29
2.5.4. Određivanje TOS .....	29
2.5.5. Određivanje PAB .....	29
2.6. STATISTIČKA ANALIZA .....	30
<b>3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>31</b>
<b>4. REZULTATI.....</b>	<b>32</b>
<b>5. DISKUSIJA .....</b>	<b>85</b>
<b>6. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>97</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>100</b>

## SKRAĆENICE

- AdipoR1** – adiponektinski receptor-1 (eng. *Adiponectin Receptor-1*)  
**ADMA** – asimetrični dimetil arginin  
**AHA** – Američka asocijacija za bolesti srca (eng. *American Heart Association*)  
**AIM** – akutni infarkt miokarda  
**AKS** – akutni koronarni sindrom  
**ANOVA** – analiza varijanse  
**AP-1** – eng. *Activator Protein-1*  
**ARE** – eng. *Antioxidant Response Element*  
**ATP** – adenozin trifosfat  
**BEACON studija** – eng. *Bardoxolone Methyl Evaluation in Patients With Chronic Kidney Disease and Type 2 Diabetes*  
**BMI** – indeks tjelesne težine (eng. *Body Mass Index*)  
**BuChE** – butiril holinesteraza  
**CAT** – katalaza  
**CDC** – Centri za kontrolu i prevenciju bolesti (eng. *Centres for Disease Control and Prevention*)  
**CDDO-Me** – bradoksolon metil (2-cijano-3,12-dioksooleana-1,9(11)-dien-28-oična kiselina)  
**CH50** – ukupna aktivnost komplementa  
**CKD-EPI** – eng. *Chronic Kidney Disease Epidemiology*  
**CONTRAST studija** – eng. *CONvective TRAnsport STudy*  
**CoQ10** – koenzim Q10  
**CRIC studija** – eng. *The Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study*  
**CRP** – C-reaktivni protein  
**DEXA** – eng. *Dual-Energy X-ray Absorptiometry*  
**DHA** – dokozaheksaenska kiselina  
**DM** – diabetes mellitus  
**EKG** – elektrokardiogram  
**EPA** – eikozapentaenska kiselina  
**ESRD** – totalno otkazivanje renalne funkcije (eng. *End Stage Renal Disease*)  
**EXAMINE studija** – eng. *Examination of Cardiovascular Outcomes with Alogliptin versus Standard of Care*  
**Fe<sup>2+</sup>** – fero jon  
**GFR** – brzina glomerularne filtracije (eng. *Glomerular Filtration Rate*)  
**Gpx** – glutation peroksidaza  
**Grx** – glutaredoksini  
**GST** – glutation-S-transferaza  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** – vodonik peroksid  
**Hcy** – homocistein  
**HD** – hemodijaliza  
**HDL-C** – HDL-holesterol  
**HO·** – hidroksilni radikal  
**HR** – hormon rasta  
**HRI** – hronična renalna insuficijencija  
**ICAM-1** – intercelularni adhezivni molekul 1  
**IGF-1** – insulINU sličan faktor rasta -1 (eng. *Insulin-like Growth Factor-1*)  
**IGFBP-3** – eng. *Insulin-like Growth Factor-Binding Protein 3*  
**IL-1** – interleukin 1

**IL-10** – interleukin 10  
**IL-12** – interleukin 12  
**IL-18** – interleukin 18  
**IL-1 $\beta$**  – interleukin 1 $\beta$   
**IL-2** – interleukin 2  
**IL-4** – interleukin 4  
**IL-5** – interleukin 5  
**IL-6** – interleukin 6  
**iRNK** – informacijska RNK  
**IRS-1** – insulinski receptor 1 (eng. *Insulin Receptor Substrate 1*)  
**ISRNM** – Internacionalno društvo za nutriciju i metabolizam u renalnim bolestima (eng. *International Society of Renal Nutrition and Metabolism*)  
**KAB** – koronarna arterijska bolest  
**keap1** – eng. *Kelch-like ECH-associated Protein 1*  
**KP** – krvni pritisak  
**KVB** – kardiovaskularne bolesti  
**LDL-C** – LDL-holesterol  
**MCP-1** – monocitni hemoatraktantni protein-1 (eng. *Monocyte Chemoattractant Protein-1*)  
**MDA** – malon dialdehid  
**MIS** – malnutricija – inflamacija score (eng. *Malnutrition Inflammation Score*)  
**MPO** – mijeloperoksidaza  
**NAC** – N-acetilcistein  
**NF- $\kappa$ B** – eng. *Nuclear Factor kappa B*  
**NHANES** studija – eng. *The National Health and Nutrition Examination Survey*  
**NIH** – Američki institut za zdravlje (eng. *National Institute of Health*)  
**NO** – azot monoksid  
**NRF2** – eng. *Nuclear Factor E2-related Factor 2*  
**O<sub>2</sub>** – molekularni kiseonik  
**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** – superoksidni anjon radikal  
**PAB** – prooksidativno-antioksidativni balans  
**PD** – peritonealna dijaliza  
**PEG** – proteinsko-energetski gubitak  
**PI3K** – fosfatidilinozitol-3 kinaza  
**PPARs** – PPAR receptori (eng. *Peroxisome Proliferator – Activated Receptors*)  
**Prx** – peroksiredoksini  
**PTH** – paratiroidni hormon  
**RAAS** – renin-angiotenzin-aldosteron-sistem  
**RBP** – retinol vezujući protein (eng. *Retinol Binding Protein*)  
**RISCAVID** studija – ita. *RISchio Cardiovascolare nei pazienti afferenti all' Area Vasta In Dialisi*  
**ROS** – reaktivna kiseonična jedinjenja (eng. *Reactive Oxygen Species*)  
**RRT** – zamjena renalne funkcije (eng. *Renal Replacement Therapy*)  
**SOD** – superoksid dizmutaza  
**SZO** – Svjetska zdravstvena organizacija  
**TAS** – totalni antioksidativni status  
**TC** – ukupni holesterol  
**TNF- $\alpha$**  – faktor nekroze tumora  $\alpha$  (eng. *Tumor Necrosis Factor  $\alpha$* )  
**TnI** – troponin I  
**TOS** – totalni oksidativni status

**Trig** – trigliceridi

**Trx** – tioredoksini

**TT** – tjelesna težina

**TV** – tjelesna visina

**Uric** – mokraćna kiselina

**URR** – brzina smanjenja koncentracije uree (eng. *Urea Reduction Ratio*)

**VCAM-1** – vaskularni ćelijski adhezivni molekul 1

**W/H** – odnos između obima struka i obima kukova (eng. *Waist to Hip Ratio*)

# 1. UVOD

Prevalenca hronične renalne insuficijencije (HRI) u svijetu kontinuirano raste, najviše zbog porasta broja starijeg stanovništva, kao i sve većeg broja pacijenata sa diabetes mellitusom (DM) i hipertenzijom [1]. HRI je praćena brojnim komplikacijama koje utiču na sve sisteme organa, a najvažnije od njih su: anemija, hiperlipidemija, nutritivni poremećaji, poremećaji mineralno-koštanog sistema, razvoj kardiovaskularnih bolesti (KVB) [1]. Sve to dovodi po porasta neželjenih ishoda u ovoj grupi pacijenata i do porasta mortaliteta [2].

Ateroskleroza i KVB su vodeći uzročnici morbiditeta i mortaliteta kod pacijenata sa HRI. Kako se smanjuje brzina glomerularne filtracije (*“Glomerular Filtration Rate”* - GFR) tako raste prevalenca i težina kardiovaskularnih oboljenja. Kod pacijenata koji su u III ili IV fazi HRI prevalenca za razvoj KVB je 4–5 puta veća nego u opštoj populaciji [3]. Visoka incidenca morbiditeta i mortaliteta kod pacijenata sa HRI uslovljena je većom prevalencom kako klasičnih, tako i netradicionalnih faktora rizika. Tradicionalni faktori rizika za razvoj KVB kao što su DM, hipertenzija, hiperlipidemija, pretilnost i fizička neaktivnost su zastupljeniji kod pacijenata sa HRI u odnosu na opštu populaciju, ali oni ne mogu objasniti rapidan razvoj KVB u ovoj grupi pacijenata. Stoga je od izuzetnog značaja korišćenje osjetljivijih biomarkera i otkrivanje novih, karakterističnih za razne patofiziološke procese prisutne u HRI [3].

Prognoza i stratifikacija rizika su osnov za donošenje definitivnih odluka o implementaciji preventivnih strategija u kliničku praksu, što važi za individue koje imaju visok rizik od nekog neželjenog kliničkog ishoda i za populaciju koja ima nizak ili intermedijalni rizik. Međutim, procjena rizika zasnovana na tradicionalnim faktorima rizika (npr. Framingamov *score* rizika) i jednostavnim kliničkim informacijama nije dovoljno precizna za prognostičke svrhe. Zbog toga je istraživanje biomarkera koji bi mogli dopuniti stratifikaciju rizika sve intenzivnije [4].

S obzirom da pacijenti u krajnjem stadijumu HRI imaju poremećaj nutritivnog statusa i konstantno su u stanju oksidativnog stresa i sistemske inflamacije, u ovom istraživanju bavili smo se biomarkerima koji procjenjuju te patofiziološke procese, kao i stratifikacijom rizika i predikcijom mortaliteta kod pacijenata na hemodijalizi (HD).

## 1.1. BIOMARKERI

Termin “biomarker” (biološki marker) uveden je kao pojam 1989. godine, da bi 2001. godine radna grupa američkog Instituta za zdravlje (*“National Institute of Health”* - NIH) standardizovala njegovu definiciju: “biomarker je karakteristika koja se može objektivno mjeriti ili evaluirati kao indikator fizioloških i patoloških procesa ili farmakološkog odgovora na terapiju”. Biomarkeri se mogu mjeriti u biološkim uzorcima (krv, urin, tkivo), mogu predstavljati podatke dobijene nekim neinvazivnim dijagnostičkim postupcima (krvni pritisak, elektrokardiogram (EKG), holter) ili radiološkim dijagnostičkim *imaging* testovima [5].

**Tabela 1. Biomarkeri: osnovni pojmovi [6]**

Biomarker tipa 0	prirodno se pojavljuje tokom toka bolesti i longitudinalno korelira sa poznatim kliničkim pokazateljima
Biomarker tipa I	prikazuje efekte terapije saglasno sopstvenom mehanizmu djelovanja
Biomarker tipa II (surogat <i>end point</i> marker)	zamjenjuje klinički <i>end point</i> ; prediktor je kliničkog benefita/štete (ili odsustva benefita/štete) na osnovu epidemioloških, terapijskih, patofizioloških ili drugih naučnih dokaza
Faktor rizika	povezan je sa oboljenjem jer uzrokuje proces koji vodi do bolesti
Marker rizika	povezan je sa oboljenjem (statistički), ali nije uzrok istog; može biti mjerilo samog patofiziološkog procesa
Klinički <i>end point</i>	objašnjava kako se pacijent osjeća, kako funkcioniše ili kako preživljava
Intermedijalni (neultimativni) <i>endpoint</i>	klinički <i>end point</i> , ali ne i ultimativni <i>end point</i> bolesti (npr. preživljavanje ili pojava drugih ozbiljnih i ireverzibilnih morbiditeta)
Validacija biomarkera	procjena osjetljivosti, specifičnosti i reproducibilnosti tehnike određivanja biomarkera
Kvalifikacija (klinička validacija) biomarkera	dokaz o povezanosti biomarkera sa patofiziologijom bolesti ili kliničkim ishodom
Evaluacija biomarkera	povezivanje biomarkera sa kliničkim ishodom radi potvrđivanja njegovog potencijala kao surogat markera

Novi biomarkeri mogu imati klinički značaj ako su: tačni, reproducibilni, prihvatljivi pacijentu, pogodni za kliničku interpretaciju, visoko osjetljivi i specifični za ishod koji bi trebalo da identifikuju, ako na osnovu multiplih studija mogu dopuniti do tada prihvaćene prediktore tj. ako su u nekoj mjeri nezavisni pokazatelji kliničkog ishoda i ako podaci sugerišu da poznavanje nivoa biomarkera može promijeniti menadžment bolesti [7].

Najvažniji korak prije kliničke primjene nekog biomarkera je definisanje njegovih abnormalnih vrijednosti. Referentne vrijednosti, diskriminacioni limiti (*cut-off*) ili određivanje “neželjenog” nivoa biomarkera (*threshold*) koji odražava povećan rizik od nekog kliničkog ishoda su tri pristupa kojima se mogu definisati abnormalne vrijednosti biomarkera [5].

Evaluacija novog biomarkera treba uvijek polaziti od pitanja da li se povećava prediktivna tačnost najboljeg postojećeg modela koji uključuje više poznatih prediktora nekog kliničkog ishoda [8]. Sve je veći interes za stvaranje multimarker modela koji koriste kombinaciju više paralelno određivanih biomarkera u cilju predikcije rizika od obolijevanja i kliničkog ishoda pacijenta [5].

Biomarkeri teoretski mogu imati značaj u svim većim oblastima kliničke medicine: od dijagnostike, preko terapije i prevencije do prognoze. Kod pacijenata na HD prognostički markeri su najviše izučavani. Progresija bolesti i komplikacije mogu se predvidjeti na osnovu jednostavnih, lako dostupnih karakteristika pacijenta (biomarkera) kao što su: krvni pritisak, glikemija, koncentracija holesterola, proteinurija ili promjene u sedimentu urina. Prediktivna moć jednog biomarkera može se povećati njegovim kombinovanjem sa nekim drugim faktorima (npr. starost, pol). HRI je

oboljenje sa jedinstvenim profilom faktora rizika i prediktivni modeli koji su primjenljivi u opštoj populaciji ne mogu se koristiti kod ovih pacijenata. Pored toga, patofiziološki procesi najčešćih komorbiditeta, kao što su aterosklerotske komplikacije kod pacijenata sa HRI se razlikuju u odnosu na opštu populaciju [4]. Izučavanje različitih biomarkera, potencijalnih faktora rizika, u ovoj grupi pacijenata, koji specifično povećavaju prognostičku tačnost je i dalje u fokusu interesa naučne i stručne javnosti.

## **1.2. HRONIČNA RENALNA INSUFICIJENCIJA (HRI)**

HRI se definiše kao poremećaj u renalnoj strukturi ili funkciji koji traje duže od 3 mjeseca i utiče na zdravlje individue, a klasifikuje se na osnovu GFR i albuminurije. GFR se računa na osnovu GFR CKD-EPI formule, a albuminurija se izražava koncentracijom albumina u urinu (mg/L) ili odnosom urinarnog albumina i urinarnog kreatinina (mg/mmol) [9]. Pacijenti u petom stadijumu HRI imaju totalno otkazivanje renalne funkcije (*End Stage Renal Disease* – ESRD) i neophodno je da se tretiraju dijaliznom terapijom ili transplantacijom bubrega.

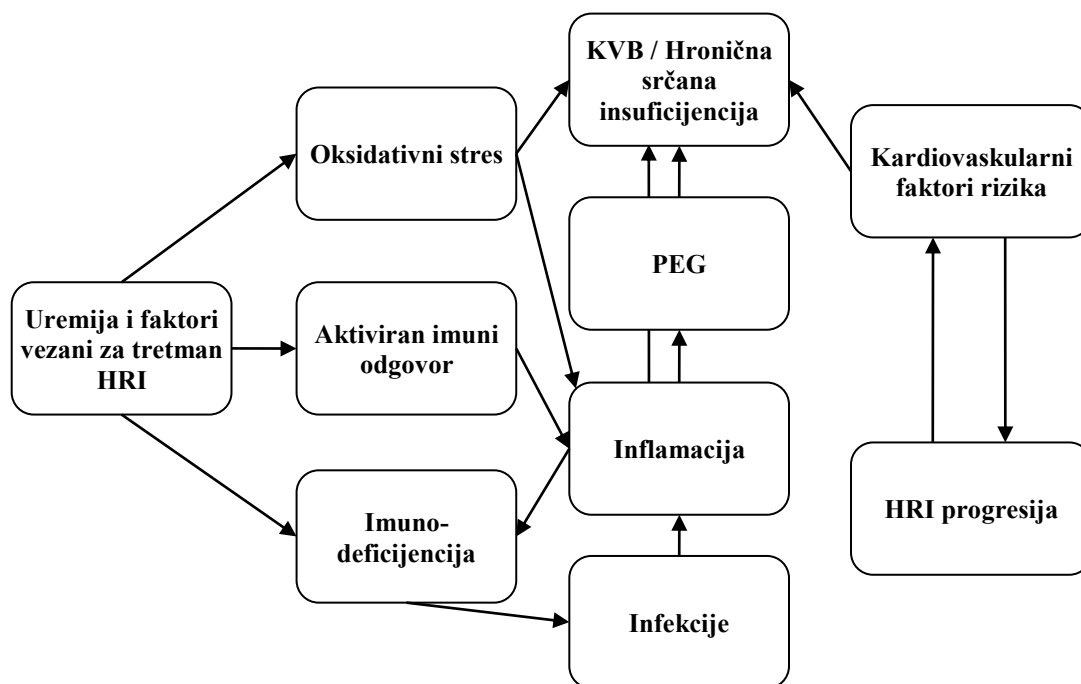
				Kategorije perzistentne albuminurije (mg/g kreatinina ili mg/mmol kreatinina), opis i opseg		
				Normalno do blago povećana	Značajno povećana	Veoma povećana
				<30 mg/g (<3 mg/mmol)	30–300 mg/g (3–30 mg/mmol)	>300 mg/g (>30 mg/mmol)
GFR kategorije (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> ) stepen, opis i opseg	1	Normalan ili visok	≥90	<b>1 ako je HRI</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
	2	Blago snižen	60–89	<b>1 ako je HRI</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
	3a	Blago do značajno snižen	45–59	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
	3b	Značajno do veoma snižen	30–44	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>3</b>
	4	Veoma snižen	15–29	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>4+</b>
	5	Otkazivanje bubrega	<15	<b>4+</b>	<b>4+</b>	<b>4+</b>

**Slika 1. Prognoza HRI na osnovu GFR i albuminurije (prilagođeno iz reference [9] KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. National Kidney Foundation 2012.)**

### 1.2.1. Uremija

Sa progresivnim gubitkom renalne funkcije razvija se uremijski sindrom, da bi se kao krajnja manifestacija istovremeno pojavile promjene na svim sistemima organa. Smanjena renalna funkcija dovodi do porasta raznih štetnih agenasa, smanjenja protektivnih elemenata, što sve zajedno vodi stvaranju toksičnog unutrašnjeg miljea. Takvo stanje je predispozicija za vaskularne komplikacije, proteinsko-energetski gubitak (PEG), osteoporozu, preuranjeno starenje i opštu slabost. Do vaskularnih komplikacija dovodi disfunkcija endotela [10]. Oksidativni stres koji je povezan sa inflamacijom olakšava vaskularnu kalcifikaciju i smanjuje elastičnost krvnih sudova [11]. Samim tim je jedan od promotera disfunkcije endotela. Pored toga, kod pacijenata na HD javljaju se hipertenzija i hipertrofija lijeve komore zbog retencije vode i soli [12]. Inflamacija u ovoj grupi pacijenata ubrzava vaskularne komplikacije i predstavlja faktor rizika za PEG [13]. Pored inflamacije, neki drugi metabolički poremećaji, kao što je npr. insulinska rezistencija (sa izmijenjenim anaboličkim efektom insulina) i abdominalna tj. visceralna raspodjela masti, takođe imaju uticaja na razvoj PEG u ESRD [14, 15].





**Slika 2. Uremija i faktori rizika za kardiovaskularne bolesti (KVB) i PEG (prilagođeno iz reference [16] Snaedal S. Markers of inflammation and cardiovascular disease in dialysis patients: variability and prognostic value. PhD Thesis. Karolinska Institutet, Stockholm, 2016)**

### 1.2.2. Dijaliza

Dijalizna procedura sama po sebi ima brojne štetne neželjene efekte. Ona doprinosi razvoju PEG tako što indukuje dalji gubitak rezidualne renalne funkcije, gubitak nutrijenata i proteina kroz dijalizat i dovodi do hipermetabolizma i inflamacije [13, 17, 18]. Centralni dijalizni kateteri su najznačajniji uzrok inflamacije i infekcije [19]. ESRD i dijaliza povezani su sa depresijom, brzim zamaranjem i gubitkom apetita, što sve doprinosi PEG [20, 21]. Intradijalizna hipotenzija loše utiče na miokard i ishod pacijenata na HD [22]. Postoje dokazi da je produžena intradijalizna hipoksemija povezana sa inflamacijom, povećanim zahtjevima za eritropoetinom, češćim hospitalizacijama i povećanim mortalitetom [23].

### 1.2.3. Morbiditet i mortalitet u ESRD

Sa smanjenjem renalne funkcije inverzno se povećava rizik od mortaliteta [2]. Mortalitet uzrokovan KVB je 30 puta veći kod pacijenata sa ESRD nego u opštoj populaciji [24]. KVB su u evropskoj populaciji vodeći uzrok mortaliteta kod ESRD pacijenata, tako da 40% svih smrtnih ishoda objašnjavaju KVB, a 15% infekcije [25]. Stopa mortaliteta je slična kod pacijenata na HD i PD [26]. Prevalenca komorbiditeta kod pacijenata na dijalizi u Evropi je visoka. Koronarnu arterijsku bolest (KAB) ima 29% pacijenata, 29% kongestivnu srčanu insuficijenciju, 14% cerebrovaskularne bolesti, 23% periferna vaskularna oboljenja i 20% DM [27]. Komorbiditeti i komplikacije koje uslovljavaju su uzrok loših ishoda kod pacijenata na dijalizi [28, 29].

### 1.3. PROTEINSKO ENERGETSKI GUBITAK U HRI

PEG je važan komorbiditet u HRI koji se definiše kao gubitak tjelesnih proteina i energetske zaliha. Na osnovu preporuke Internacionalnog društva za nutricionizam i metabolizam u renalnim bolestima (*“International Society of Renal Nutrition and Metabolism”* – ISRNM) dijagnoza PEG se zasniva na četiri kriterijuma: biohemijskom, niskoj tjelesnoj težini/redukovanju ukupnih tjelesnih masti, smanjenju mišićne mase i niskom unosu proteina i energije [30].

U prošlosti se koristilo više različitih termina koji su objašnjavali proteinsko-energetski status kod pacijenata sa HRI tj. gubitak proteina i gubitak energije u obliku masti karakterističan za ovu grupu pacijenata: uremijska malnutricija [31], uremijska (renalna) kaheksija [32], proteinsko-energetska malnutricija [33], malnutricija-inflamacija-ateroskleroza sindrom [34], malnutricija-inflamacija kompleks [35]. Danas je potvrđeno da inflamacija može usloviti abnormalnosti u proteinsko-energetskom nutritivnom statusu [36]. Najjednostavnije objašnjenje za korišćenje termina “gubitak” umjesto termina “malnutricija” je to što se malnutricija odnosi na poremećaje uzrokovane neadekvatnom ishranom, dok je gubitak poremećaj koji se ne može korigovati samo korekcijom ishrane [37]. PEG je u stvari stanje pothranjenosti do kojeg dolazi zbog smanjenog unosa nutrijenata i/ili povećanog katabolizma [38]. Prevalenca PEG kod pacijenata na hemodijalizi je 30–50% [39]. Posljednjih godina se u rutinsku praksu pokušava uvesti procjena nutritivnog statusa kod pacijenata sa HRI, što je od izuzetnog značaja s obzirom na činjenicu da je PEG prognostički faktor za mortalitet [40]. Smanjenje indeksa tjelesne mase (*Body Mass Index* – BMI) za jednu jedinicu dovodi do povećanja rizika od mortaliteta uslovljenog KVB za 6%, dok smanjenje koncentracije albumina za 10 g/L povećava rizik od KVB mortaliteta za 39% [41]. Preporuka ekspertske grupe za dijagnozu PEG su abnormalna tri od četiri preporučena kriterijuma, pri čemu je urađen makar jedan preporučeni test iz svake od četiri grupe. U idealnoj varijanti, svaki kriterijum treba biti određen najmanje tri puta, sa razmakom od 2-4 sedmice [30]. Ne postoji dobro definisan test ili zlatni standard za dijagnozu PEG, tako da se postojeći kriterijumi moraju koristiti pažljivo, sa sviješću o njihovim limitacijama i izuzecima [38].

**Tabela 2: Kriterijumi za dijagnozu PEG kod pacijenata sa akutnom ili hroničnom renalnom insuficijencijom (prilagođeno iz reference [30] Fouque D, Kalantar-Zadeh K, Kopple J, Cano N, Chauveau P, Cuppari L, Franch H, Guarneri G, Ikizler TA, Kaysen G, Lindholm B, Massy Z, Mitch W, Pineda E, Stenvinkel P, Treviño-Becerra A, Wanner C. A proposed nomenclature and diagnostic criteria for protein-energy wasting in acute and chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2008;73:391-8)**

**1. Biohemija iz seruma**

Albumin u serumu < 38 g/L (Bromkrezol zeleno)(a)

Prealbumin u serumu < 0,3 g/L (samo za pacijente koji su na programu hemodijalize; nivoi mogu varirati za pacijente sa HRI stadijum 2-5)(a)

Holesterol iz seruma < 1 mg/mL(a)

**2. Tjelesna masa**

BMI < 23(b)

Nenamjerni gubitak težine: 5% tokom tri mjeseca ili 10% tokom šest mjeseci

Totalni tjelesni procenat masti < 10%

**3. Mišićna masa**

Gubitak mišićne mase: redukovanje mišićne mase 5% tokom tri mjeseca ili 10% tokom šest mjeseci

Redukovani obim nadlaktice(c) (redukcija veća od 10% u odnosu na pedeseti percentil referentne populacije)

Koncentracija kreatinina(d)

**4. Režim ishrane**

Nizak unos proteina hranom < 0,80 g/kg/dan tokom najmanje dva mjeseca(e) za pacijente na HD ili < 0,6 g/kg/dan za pacijente sa HRI stadijuma 2–5

Nizak unos energenata hranom < 25 kcal/kg/dan tokom najmanje dva mjeseca(e)

Za dijagnozu PEG uslovljenog renalnim bolestima, bar tri od četiri pomenute kategorije moraju biti ispunjene, sa minimum jednim testom iz kategorije. Optimalno, svaki kriterijum bi trebalo dokumentovati najmanje tri puta, poželjno sa razmakom od dvije do četiri sedmice.

(a) Nije validno kod niskih koncentracija nastalih usled velikog gubitka proteina preko urinarnog ili gastro-intestinalnog trakta, bolesti jetre, korišćenja medikamenata koji smanjuju koncentraciju holesterola

(b) Niži BMI može biti poželjan kod azijske populacije; podrazumijeva se težina bez edema (npr. post-dijalizna suva težina)

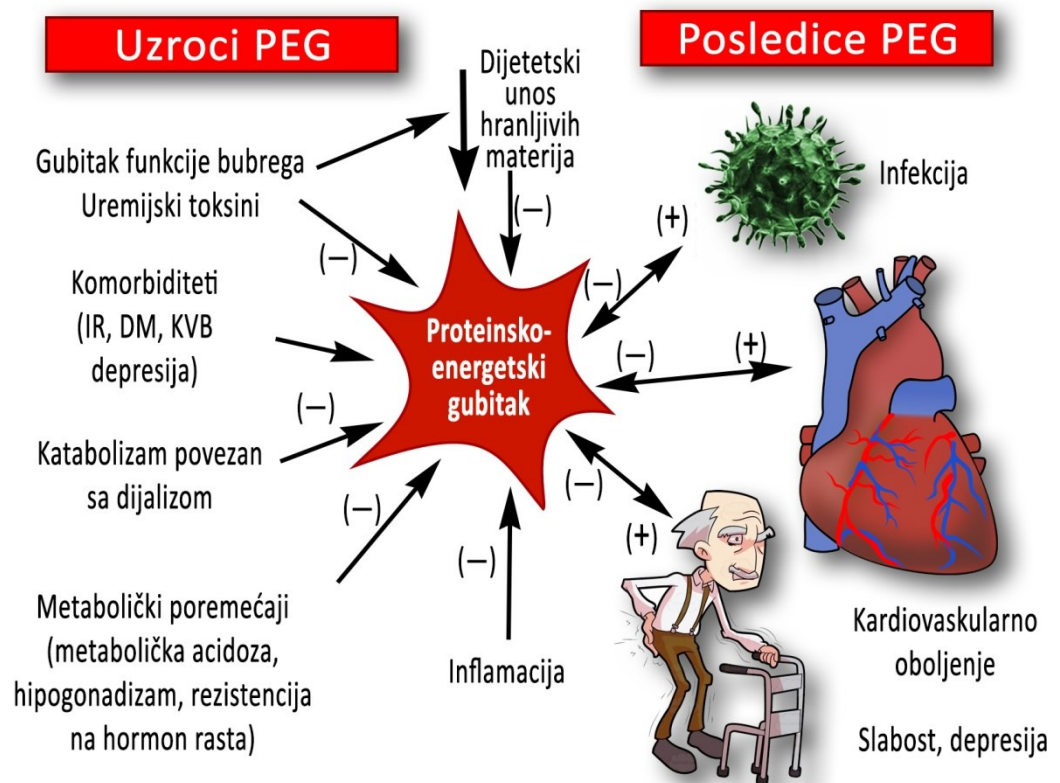
(c) Mjerenje mora izvesti uvježbani antropometrist.

(d) Koncentracija kreatinina zavisi od mišićne mase i unosa mesa.

(e) Procjenjuje se na osnovu evidencije o ishrani i intervjuja ili na osnovu proteinskog unosa dobijenog računanjem normalizovanog proteinskog ekvivalenta (nPNA ili nPCR) koji se određuje kinetičkim mjerenjem uree.

Uzroci PEG u HRI su različiti. Smanjen unos proteina i smanjen energetski unos su najčešći uzroci do kojih dovode restrikcije u ishrani, loš apetit, nauzeja i depresija. Dijalizni tretman sam po sebi dovodi do gubitka proteina. Homeostaza ukupnih tjelesnih proteina kao i proteina iz skeletnih mišića je poremećena i dolazi do smanjenja sinteze proteina i povećanja njihove razgradnje. Izuzetno katabolički efekat HD na proteine zadržava se najmanje 2 sata nakon završetka HD tretmana [42]. Ostali

uzročnici PEG mogu biti: smanjena fizička aktivnost, komorbiditeti koji mogu dovesti do PEG, smanjen anabolizam, povećana potrošnja energije u miru, povećana aktivnost glukokortikoida i metabolička acidoza [13]. Inflamacija učestvuje u brojnim patofiziološkim putevima čiji je krajnji rezultat PEG. Ona je takođe povezana sa gubitkom apetita [43], depresijom [44], povećanom potrošnjom energije u miru [45], zatim sa oksidativnim stresom [46], rezistencijom skeletnih mišića na insulin, mišićnom atrofijom [47], smanjenom koncentracijom albumina [48]. Proinflamatorni citokini suprimiraju aktivnost enzima fosfatidilinozitol-3 kinaze (PI3K) koja je udružena sa insulinim receptorom-1 (IRS-1) što dovodi do poremećaja u aktivnosti insulin/IGF-1 (*Insulin-like Growth Factor-1*) signalnog puta i do razgradnje tjelesnih proteina [49]. Mehanizam djelovanja metaboličke acidoze u patogenezi PEG je takođe supresija insulin/IGF-1 signalnog puta. Oralna suplementacija bikarbonatima poboljšava nutritivni status u ovoj grupi pacijenata [50]. Kod pacijenata sa HRI poremećena je i hormon rasta (HR)/IGF-1 osa, te je smanjen intenzitet anaboličkih procesa u organizmu. Terapija sa rekombinantnim HR dovodi do poboljšanja rasta kod djece sa HRI, što govori u prilog tezi da rezistencija na HR ima značajnu ulogu u razvoju PEG kod pacijenata na HD [51]. Pacijenti na HD takođe su skloniji razgradnji proteina zbog pridruženih gastrointestinalnih simptoma: gastropareza, nauzeja, povraćanje, poremećaj mikroflore crijeva i insuficijencija pankreasa [52].



**Slika 3. Uzroci i posledice PEG (preuzeto i prilagođeno iz reference [53] Nutrition and Hemodialysis; Dr.Mona Tawfik Lecturer of Internal Medicine MNDU [cited 2017 May 20]. [Internet]. Available from <https://www.slideshare.net/DrMohaM/nutrition-and-hemodialysis>)**

ISRNM je preporučio nekoliko mogućih načina za prevenciju i terapiju PEG kao što su: čuvanje mišićne mase, nutritivna intervencija (preporučeni proteinski-kalorijski unos), adekvatni dijalizni tretmani, terapija metaboličke acidoze, terapija sistemske inflamacije, zatim korekcija opterećenja volumenom, terapija komorbiditeta kao što su DM ili KVB [54]. Konvencionalni pristup strategiji nutritivnog režima pacijenata na HD podrazumjeva ograničavanje unosa nekih potencijalno štetnih elemenata kao što je npr. fosfor [55]. Međutim, ograničavanje unosa fosfora može indirektno dovesti do povećanja rizika za razvoj PEG, jer se sa smanjenjem unosa fosfora smanjuje i unos proteina, a neograničen proteinski unos povećava količinu fosfata u organizmu. Nedavna opservaciona studija je pokazala da su najbolje ishode imali pacijenti sa sniženim serumskim fosfatima, koji su unosili povećane količine proteina. Klinički ishodi kod takvih pacijenata bili su mnogo bolji od istih kod grupe pacijenata sa smanjenim nivoom fosfata u krvi i smanjenim proteinskim unosom [56]. Za sada su preventivni i terapijski režimi koji se koriste kod pacijenata sa PEG rijetko uspješni, najviše zbog samih karakteristika pacijenata koji su najčešće starije životne dobi, slabi su, vode sedenteran način života i malo su ili nimalo fizički aktivni. Zbog toga su za ovu grupu pacijenata neophodne potpuno nove terapijske strategije [13].

**Tabela 3. Preporučene nutritivne i antiinflamatorne intervencije kod pacijenata sa HRI (preuzeto i prilagođeno iz reference [52] Ikizler TA. Optimal Nutrition in Hemodialysis Patients. Adv Chronic Kidney Dis. 2013;20(2):181-9.)**

Nutritivne intervencije - HD

- Kontinuirano savjetovanje o režimu ishrane
- Odgovarajuća preporučena količina unosa proteina (>1,2g/kg/dan) i kalorija i (>30kcal/kg/dan)
- Optimizovana doza dijaliznog tretmana
- Korišćenje biokompatibilnih dijaliznih membrana
- Podrška u ishrani kod onih HD pacijenata koji se ne mogu sami brinuti o sopstvenoj prehrani
- Oralna suplementacija
- Gastrostome (ako su medicinski opravdane)
- Intradijalitička parenteralna prehrana
- Lagane vježbe sa tegovima uz nutritivnu suplementaciju
- Anabolički steroidi
- Stimulatori apetita (eksperimentalni)
- Megestrol acetat, dronabinol, talidomid i grelin
- Faktori rasta (eksperimentalni)
- Rekombinantni humani HR
- Rekombinantni humani IGF-1

Antiinflamatorne intervencije - HD

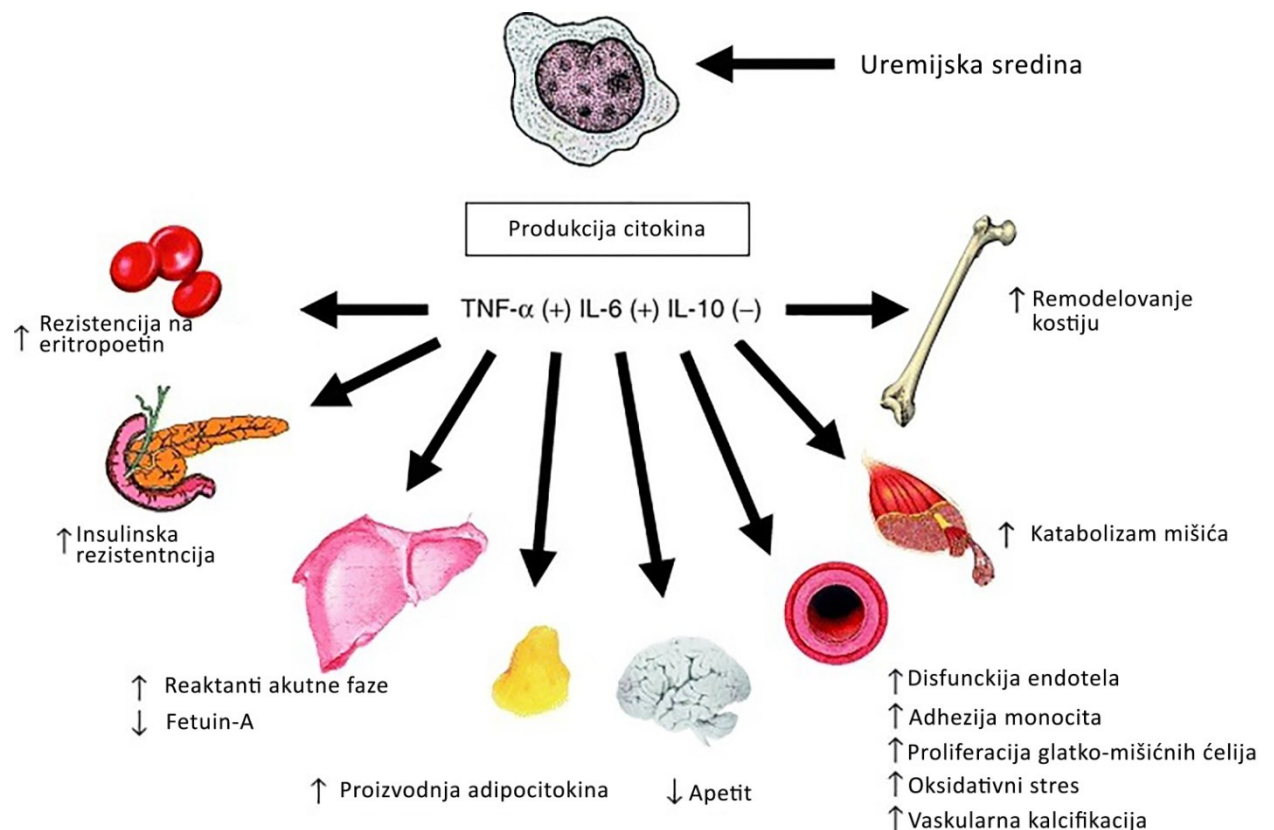
- Pentoksifilin
- Ciljana anticitokinska terapija (IL-1 receptorski antagonist, blokator TNF- $\alpha$ )
- Statini
- Tiazolidindioni
- ACE inhibitori
- Lagane vježbe sa tegovima
- Talidomid
- Riblje ulje ili vitamin E

## 1.4 INFLAMACIJA U HRI

Inflamacija je krajem devedesetih godina prošlog vijeka prepoznata kao nezaobilazni dio HRI i dovedena je u vezu sa KVB, PEG i mortalitetom [57]. Inflamacija je generalno u populaciji povezana sa opštim mortalitetom i mortalitetom uzrokovanim KVB [58]. Posljednjih 15 godina rastao je interes za inflamaciju kod pacijenata sa HRI i ESRD što je dovelo do sadašnjeg, utemeljenog brojnim studijama i prihvaćenog stava o inflamaciji kao pouzdanom faktoru rizika za morbiditet i mortalitet u HRI [59]. HRI je uvijek praćena sistemskom inflamacijom koja pospješuje progresiju renalne bolesti, dovodi do preuranjenog starenja [60] i do razvoja KVB [61]. Hronična inflamacija može biti indukovana biološkim (infekcije, autoimune bolesti), hemijskim (lijekovi, toksini iz životne sredine) i fizikalnim (fizička neaktivnost) faktorima [62, 63].

U CRIC studiji biomarkeri inflamacije (interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), antagonist receptora za IL-1, interleukin 6 (IL-6), faktor nekroze tumora  $\alpha$  (*Tumor Necrosis Factor  $\alpha$*  – TNF- $\alpha$ ),

C-reaktivni protein (CRP) i fibrinogen bili su u inverznoj korelaciji sa parametrima pokazateljima renalne funkcije i u pozitivnoj korelaciji sa albuminurijom [64]. Različiti biomarkeri inflamacije imaju različite prediktivne vrijednosti u populaciji pacijenata sa HRI/ESRD. CRP se na osnovu podataka iz velikog broja internacionalnih i multi-centričnih studija pokazao kao snažan prediktor mortaliteta (opšteg i KVB) kod pacijenata na HD i PD [65, 66]. Njegova sposobnost predikcije mortaliteta može se mjeriti sa sposobnošću predikcije albumina, a veća je od iste kod feritina i leukocita [67]. IL-6 je takođe prediktor mortaliteta kod HD pacijenata [68], ali je njegova prediktivna sposobnost za mortalitet u ovoj grupi pacijenata veća od iste kod CRP i drugih citokina (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i interleukin 18 (IL-18)) [69, 70]. Određivanje koncentracija IL-6 i CRP u tjelesnim tečnostima je jednostavno. IL-6 je citokin koga proizvode: T-ćelije, mastociti, makrofage, endotelne i mnoge druge ćelije [71]. CRP, protein akutne faze iz familije pentraksina, proizvode hepatociti i njegova sinteza je najvećim dijelom pod uticajem IL-6 [72]. Multipleks tehnologija je omogućila analizu citokinskog panela pa je tako dokazano da karakteristični citokinski obrazac sa visokim koncentracijama proinflamatornih citokina: IL-1, IL-6 i TNF- $\alpha$  u kombinaciji sa niskim antiinflamatornim parametrima: interleukin 2 (IL-2), interleukin 4 (IL-4), interleukin 5 (IL-5), interleukin 12 (IL-12), ukupna aktivnost komplementa (CH50) i brojem T limfocita, povećava rizik od mortaliteta u poređenju sa pacijentima koji nemaju opisani citokinski obrazac [73].

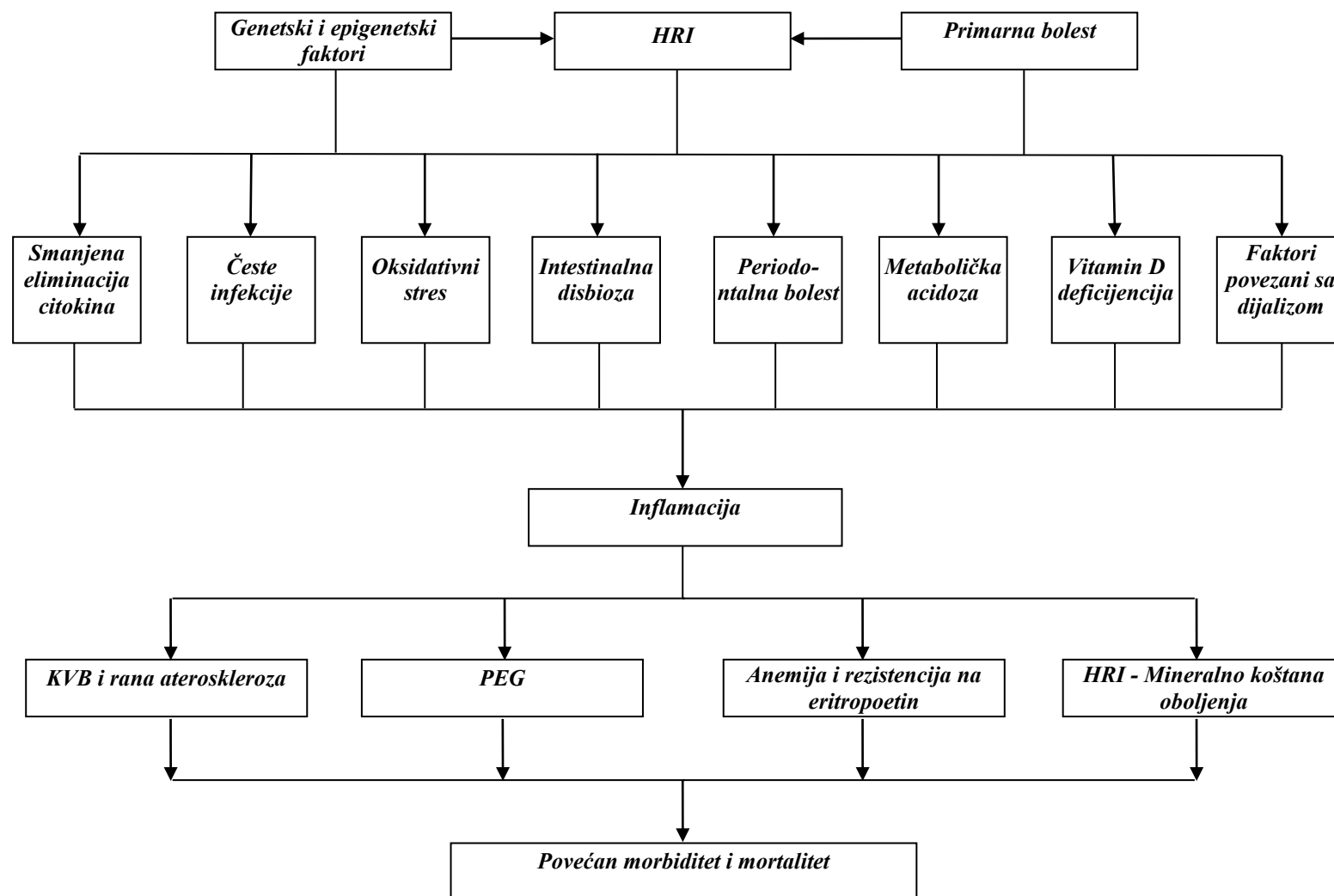


**Slika 4. Mogući mehanizam djelovanja pro- i antiinflamatornih citokina u promociji ateroskleroze, drugih uremijskih komplikacija i PEG (preuzeto i prilagođeno iz reference [74] Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, Lindholm B, Pecoits-Filho R, Riella M, Heimbürger O, Cederholm T, Girndt M. IL-10, IL-6, and TNF- $\alpha$ : Central factors in the altered cytokine network of uremia – The good, the bad, and the ugly. *Kidney Int.* 2005;67(4):1216-33)**

U posljednje vrijeme se dosta pažnje posvetilo ulozi adipokina u HRI, npr. proinflammatory leptina, apelina, omentina, visfatina, rezistina i antiinflammatory adiponektina [75, 76]. Podaci iz NHANES studije su dokazali povezanost HRI sa visokim nivoima leptina [77]. Nivoi adiponektina kod pacijenata sa ESRD su viši nego u kontrolnoj grupi pacijenata sa normalnom renalnom funkcijom [78]. Leptin je u HRI povezan sa metaboličkim sindromom i koncentracijom paratireoidnog hormona (PTH) [79], a kod pacijenata na PD koji nemaju DM odnos leptina i adiponektina je nezavisni prediktor mortaliteta, bolji od individualnih adipokina [80].

Perzistentna inflamacija u HRI nije povezana samo sa kardiovaskularnom patologijom, uključujući i aterosklerozu, već je jedan od osnovnih faktora rizika za razvoj PEG [81]. Postoji nekoliko potencijalnih mehanizama kojima inflamacija uzrokuje PEG [82]. Proinflammatory citokini direktno mogu dovesti do anoreksije djelovanjem na centralni nervni sistem. IL-6 je vjerovatno povezan sa depresijom kod HRI i ESRD, koja je sama po sebi prediktor morbiditeta i mortaliteta [83] i utiče na unos nutrijenata. Inflamacija ne dovodi do PEG samo preko malnutricije već može povećati potrošnju energije u miru o čemu je već bilo riječi. Imuni sistem je, nakon mozga i mišića, treći potrošač tjelesne energije. Pored toga inflamacija dovodi do supresije anaboličkih hormona, HR, IGF-1 i testosterona [84] i ima bitnu ulogu u patofiziološkim procesima koji vode razvoju anemije i bolestima mineralno-koštanog sistema kod pacijenata sa HRI [61]. Multipli faktori doprinose disregulaciji imunog sistema i aktivaciji inflammatory procesa kod pacijenata sa HRI. Neki od njih se odnose na primarnu bolest koja je dovela do renalne insuficijencije a ne na samu uremiju, drugi su proizvod genetskog nasleđa ili su epigenetski faktori (uslovljeni navikama u ishrani, načinom života i životnom sredinom) [74]. Smanjen renalni klirens uslovljava povećanu koncentraciju citokina u plazmi, ali je opisana i povećana produkcija citokina [85]. Uremijska sredina dovodi do oksidativnog i karbonilnog stresa koji su proinflammatory [86, 87]. Metabolička acidoza takođe dovodi do inflamacije [88]. Pacijenti sa HRI, pogotovo oni na dijaliznom tretmanu, skloni su čestim infektivnim i trombotičkim komplikacijama koje stvaraju dodatni inflammatory stimulus. Te komplikacije mogu biti: infekcije krvi uslovljene prisustvom katetera, infekcije mjesta koje predstavlja dijalizni pristup, tromboze arteriovenskih fistula ili graftova i peritonitis kod pacijenata na PD [89].





*Slika 5. Uzroci i posledice inflamacije u HRI (preuzeto i prilagođeno iz reference [60] Akchurin OM, Kaskel F. Update on Inflammation in Chronic Kidney Disease. Blood Purif 2015;39:84-92.)*

Parodontalne bolesti su česta komplikacija kod pacijenata na HD [90], a hronična periodontalna inflamacija je povezana sa porastom sistemskih biomarkera inflamacije kod ovih pacijenata i nepovoljno djeluje na njihovo preživljavanje [91]. Još jedan mogući uzročnik inflamacije u ESRD je izmijenjena crijevna mikroflora i poremećena intestinalna barijera [92] koja dovodi do povećane translokacije crijevnih bakterija i njihovih komponenti u cirkulaciju i aktiviranja sistemske inflamacije [93]. Disfunkcija imunog sistema uslovljena deficijencijom vitamina D kod pacijenata sa HRI je jedan od uzroka inflamatornog odgovora [94]. Inflamatorne citokine u HRI ne proizvode samo limfociti, već i druga različita tkiva, kao npr. adipozno tkivo, koje je u renalnoj insuficijenciji disfunkcionalno [75]. Visceralno adipozno tkivo u HRI ima povećanu ekspresiju iRNK za proinflamatorne citokine: TNF- $\alpha$ , CD68, adiponektinski receptor-1 (*Adiponectin Receptor-1* – AdipoR1) i monocitni hemoatraktantni protein-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1* – MCP-1) [95]. Od trećeg do petog stadijuma HRI količina visceralnog masnog tkiva korelira sa koncentracijom IL-6 u cirkulaciji [96]. Kod ESRD dolazi do retencije citokina [74] i povećane aktivnosti simpatikusa, što takođe može pojačati inflamaciju [97]. Sam hemodijalizni tretman ushodno reguliše transkripciju proinflamatornih citokina [98]. Veliki broj ekstrakorporalnih faktora utiče na aktivaciju inflamatornog procesa kod ovih pacijenata. To su: bioinkompatibilne dijalizne membrane [99], nečist dijalizat [100] i mikrobiološki kvalitet dijalizata [101]. Danas se uglavnom koriste sintetičke membrane koje su daleko više biokompatibilne [102]. Viši pH dijalizata, do koga se došlo korišćenjem bikarbonata kao pufera povećao je biokompatibilnost kod PD [103].

Inflamacija ima centralnu ulogu u razvoju KVB [104]. Ateroskleroza je uslovljena adhezijom leukocita za endotel preko adhezivnih molekula (ICAM-1, VCAM-1, E-selektin) koji su eksprimirani na površini endotelnih ćelija kao odgovor na prisustvo brojnih proinflamatornih citokina [105]. Poznato je da su kod pacijenata na dijalizi povećane količine adhezivnih molekula [106]. CRP sam učestvuje u formaciji aterosklerotskih lezija tako što se vezuje za modifikovani LDL-holesterol (LDL-C), aktivira komplement i dovodi do formiranja pjenastih ćelija [107]. Povećan BMI je faktor koji pozitivno utiče na preživljavanje kod pacijenata na HD, za razliku od opšte populacije. Ovaj iskaz su potvrdili rezultati većine, ali ne svih, studija sa populacijom pacijenata na dijaliznom tretmanu iz Evrope, Sjeverne Amerike i Azije [108]. Još neki konvencionalni kardiovaskularni faktori rizika (npr. hiperholesterolemija) povezani su sa većom stopom preživljavanja kod pacijenata na HD. Sama pojava se naziva reverznom epidemiologijom u ESRD [109]. Novija istraživanja su ukazala da pozitivan, mada paradoksalan, efekat BMI na smanjenje rizika od mortaliteta kod pacijenata na HD postoji samo u prisustvu inflamacije. Efekat se smanjuje ako pacijenti nisu u inflamaciji [110]. Distribucija tjelesnih masti uvijek se treba uzeti u obzir iz razloga što je abdominalna tj. visceralna mast ona koja korelira sa inflamacijom i PEG kod pacijenata na HD i povećava rizik od mortaliteta [15]. Inflamacija je povezana sa sistolnom disfunkcijom lijeve komore i hroničnom srčanom insuficijencijom kod pacijenata koji nemaju renalno oboljenje [111], kao i sa hipertrofijom lijeve komore kod pacijenata na PD [112]. Patofiziološki mehanizam djelovanja inflamacije na srce još uvijek nije dobro objašnjen [113]. U jednoj studiji na animalnom modelu indukovana je disfunkcija lijeve komore infuzijom TNF, koja se povukla primjenom TNF receptorskih antagonista, što je dokaz direktnog kardiotoksičnog dejstva ovog citokina [114]. Inflamatorni medijatori djeluju na kardiomiocyte i fibroblaste tako što dovode do njihove hipertrofije i fibroze indukujući apoptozu i remodelovanje miokarda [115]. IL-6 je najviše proučavan citokin koji ima važnu ulogu kao proinflamator koji aktivira B limfocite, medijatore akutno-faznog odgovora [116], a takođe je moguće da ima ulogu u

patogenezi ateroskleroze [117]. Skorašnje studije povezuju funkcionalni polimorfizam IL-6 sa kardiovaskularnim epizodama kod HRI pacijenata, dok takva veza nije ustanovljena sa CRP haplotipom [118]. Iako još uvijek ne postoji konsenzus o tome da li je CRP samo nishodni proizvod tekuće inflamacije i da li ima ulogu u patogenezi ateroskleroze, dokazi ga svrstavaju u najsnažnije prediktore razvoja KVB.

#### ***1.4.1 Korekcija inflamacije u HRI***

Predložene intervencije koje kao cilj imaju smanjivanje inflamacije kod pacijenata na HRI mogu se podijeliti u tri grupe: promjena stila života, farmakološke intervencije i optimizacija dijaliznog tretmana [119]. Oralna suplementacija i lagane fizičke vježbe u samom centru za dijalizu ili kod kuće lako su sprovodljive i jeftine intervencije koje mogu poboljšati preživljavanje kod pacijenata sa ESRD [120]. Smanjenje inflamatornog procesa kod pacijenata sa HRI pored odgovarajućeg, zadovoljavajućeg ukupnog unosa nutrijenata/energije, omogućavaju specifične prehranbene komponente kao što su omega-3 masne kiseline/riblje ulje, katehini iz ekstrakta zelenog čaja [121], sok od nara, izoflavonoidi iz soje [122], biljna vlakna i probiotici. U randomizovanoj, placebo-kontrolisanoj studiji pokazano je da unošenje soka od nara snižava koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$ , smanjuje oksidativni stres i incidencu infekcija kod pacijenata na HD [123]. Konzumiranje sojinog mlijeka značajno smanjuje nivo D-dimera, ali nema uticaja na koncentraciju citokina i CRP kod pacijenata sa dijabetičnom nefropatijom [124]. Rezultati iz NHANES III studije, na velikom broju ispitanika, pokazali su da veći unos hrane bogate biljnim vlaknima dovodi do smanjenja nivoa CRP i smanjenog opšteg mortaliteta kod pacijenata sa HRI [125]. Antiinflamatorni efekat probiotika za sada je dokazan na animalnom modelu [126], ali nedostaju kliničke studije sa značajnim dokazima o istom efektu kod ljudi [127]. HR se smatra anaboličkom kod odraslih pacijenata sa PEG na HD tretmanu [55]. U velikoj, multicentričnoj randomizovanoj kontrolnoj studiji, suplementacija HR kod pacijenata na HD tretmanu dovela je do značajnog smanjenja koncentracije CRP i homocisteina i povećanja serumskog HDL-holesterola (HDL-C) i transferina [9]. Fizička aktivnost dokazano smanjuje inflamatorni odgovor kod zdravih pacijenata i kod pacijenata koji boluju od raznih hroničnih oboljenja, uključujući i HRI [128]. Kod predijaliznih pacijenata, redovna šetnja tokom 6 mjeseci (30 minuta dnevno, 5 dana u sedmici) dovela je do antiinflamatornog efekta (redukcija plazma nivoa IL-6 i interleukina 10 (IL-10)) i nishodne regulacije aktivacije T limfocita i monocita [129]. Farmakološke intervencije čiji je cilj redukovanje inflamacije u HRI uključuju korišćenje dobro poznatih terapijskih strategija u ovoj grupi pacijenata (npr. HR, vitamin D), nove farmakološke preparate za kontrolu patofiziološkog mehanizma koji dovodi do inflamatornog odgovora (antioksidansi) i specifičnu anticitokinsku terapiju [61]. Neki tradicionalni vidovi terapije kod HRI imaju antiinflamatorna svojstva. Npr. statini poboljšavaju hroničnu inflamaciju kod dijaliznih pacijenata [130], blokatori angiotenzin II receptora kod pacijenata u 3 i 4 stadijumu HRI dovode do redukcije CRP i fibrinogena, ali ne utiču na nivo adipokina [131]. Efekti tradicionalne dijeta sa niskim natrijumom kod pacijenata na HRI su sve kontroverzniji [132], što utemeljuju i rezultati studije Cambell i saradnika koja nije dokazala nikakav uticaj dijeta sa niskim natrijumom na pro- i antiinflamatorne adipokine kod pacijenata sa HRI [133]. Korekcija oksidativnog stresa je takođe jedna od antiinflamatornih intervencija [61]. Anti-IL-1, anti-IL-6 i anti-TNF- $\alpha$  su terapijski pristupi koji su razvijeni i testirani za neka druga nerenalna patološka stanja, ali specifična anticitokinska terapija mogla bi se razviti i za pacijente sa HRI. Međutim, rezultati studija su i dalje nedovoljni za bilo kakav zaključak [61]. Optimizacija i

povećanje kvaliteta samog dijaliznog tretmana dovodi do smanjenja inflamatornog statusa kod pacijenata sa ESRD, jer se poboljšava eliminacija faktora koji pokreću inflamatorni proces i inflamatornih medijatora [134]. Opisane intervencije podrazumijevaju: korišćenje biokompatibilnih membrana, stroge standarde za čistoću vode koja se koristi za HD, ultra čist dijalizat, povećanu frekvencu dijaliznog tretmana i hemodijafiltraciju [61]. Ultra čist dijalizat kod pacijenata na HD rezultuje snižavanjem nivoa markera inflamacije i oksidativnog stresa, povećanjem koncentracije albumina i hemoglobina i smanjenom potrošnjom eritropoetina [135]. Kratke dnevne dijalize u poređenju sa konvencionalnim HD tretmanima, snižavaju CRP i poboljšavaju osjetljivost na eritropoetin [136]. Meta analiza pokazuje blagotvoran efekat frekventnijih HD tretmana na kardiovaskularne ishode ovih pacijenata [137]. Hemodijafiltracija može smanjiti inflamaciju i poboljšati kumulativno preživljavanje preko dodatnog klirensa molekula srednje veličine, što dokazuju studije CONTRAST i RISCAVID [138, 139].

## 1.5 OKSIDATIVNI STRES U HRI

Oksidativni stres je dio brojnih patofizioloških procesa zajedničkih za HRI i KVB od kojih su najznačajniji inflamacija i fibroza [140]. Inflamatorne ćelije su izvor reaktivnih kiseoničnih i azotnih jedinjenja, mada se reaktivna kiseonična jedinjenja (*Reactive Oxygen Species* – ROS) smatraju učestalijim. ROS oštećuju različite ćelijske strukture i mijenjaju fiziološke puteve. Ćelijsko oštećenje stimuliše nastanak ćelija modifikovanih inflamacijom, što kao posledicu ima stvaranje ciklusa hroničnog oštećenja koje je teško zaustaviti [140]. Oksidativni stres nastaje usled izmijenjene oksido-redukcione ravnoteže u ćeliji. U fiziološkim uslovima stvaranje ROS zaustavljaju endogeni antioksidansi kao prirodni odbrambeni sistem, tako da neravnoteža između ROS i antioksidanasa, koja je uzrok viših nivoa ROS, dovodi do oksidativnog stresa [141]. Najznačajnija potencijalno aktivna ROS su: superoksidni anjon radikal ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksilni radikal ( $HO\cdot$ ) i vodonik peroksid ( $H_2O_2$ ). Izvor ROS u ćeliji su mitohondrije, mada se ona stvaraju i u endoplazmatskom retikulumu, peroksizomima i lizozomima [142]. Procjenjuje se da je nivo ROS u mitohondrijama 5–10 puta veći nego u citozolu i nukleusu [143] usled prisustva respiratornog kompleksa za transport elektrona u sklopu unutrašnje membrane mitohondrija. Svaki od 5 multienzimskih kompleksa predstavlja mjesto u kome se zajedno sa ATP-om generišu i ROS. Između 1–3% molekularnog  $O_2$  se konvertuje u najčešći ROS  $O_2^{\cdot-}$  koji je prekursor  $H_2O_2$  [140]. Iako je  $H_2O_2$  u ćeliji stabilan, on ima veliki potencijal za interakciju sa različitim substratima, naročito u prisustvu fero jona ( $Fe^{2+}$ ), pri čemu dolazi do cijepanja molekula  $H_2O_2$ , nastanka najreaktivnijeg ROS  $OH\cdot$  i potencijalnog oštećenja ćelije [144]. Dokazano je da pacijenti sa HRI i na HD tretmanu imaju oštećenu mitohondrijalnu respiraciju [145].

Uloga oksidativnog stresa u patogenezi hroničnih bolesti nije još uvijek kompletno objašnjena. Oksidansi su uključeni u visoko konzervirane osnovne fiziološke procese i efektori su njihovih nishodnih puteva [146]. Specifični mehanizam oksidativnog stresa je teško objasniti zbog brzine oksidativne signalizacije [143]. Sve je više saznanja o ulozi oksidativnog stresa u ushodnoj regulaciji transkripcionih gena, što preciznije objašnjava fiziološku ulogu oksidativnog stresa kao i postojanje regulatornih sistema sklonih deregulaciji koji mogu biti ciljevi eventualne farmakološke intervencije [140]. PPAR receptori (*Peroxisome Proliferator – Activated Receptors* – PPARs), članovi superfamilije nuklearnih hormonskih receptora, izmijenjeni su kod pacijenata sa HRI i

KVB [147, 148]. Oni imaju značajnu ulogu u: transkripcionoj regulaciji ćelijske diferencijacije, metabolizmu lipida, homeostazi glukoze, progresiji ćelijskog ciklusa i inflamaciji [140]. Aktivacija PPAR $\gamma$  vodi do različitih protektivnih odgovora ćelije uključujući i biogenezu mitohondrija [149]. Omega-3 polinezasićene masne kiseline redukuju inflamaciju u tubularnim epitelnim ćelijama tako što ushodno regulišu PPAR $\gamma$ . Nedavno je utvrđena protektivna uloga i nuklearnog transkripcionog faktora NRF2/keap1/ARE (*Nuclear Factor E2-related Factor 2/Kelch-like ECH-associated Protein 1/Antioxidant Response Element*). Izmijenjeni ćelijski redoks status (povećan ROS, međuproizvodi oksidativnog oštećenja, smanjen antioksidativni kapacitet ćelije) aktivira NRF2 što dovodi do njegovog vezivanja za ARE. ARE je vitalna komponenta promotornih regiona gena koji kodiraju enzime uključene u detoksikaciju, antioksidativne i glutacion regulatorne enzime. Vezivanje NRF2 preko keap1 za ARE dovodi do inicijacije transkripcije tih gena [150]. Na taj način NRF2/keap1 i ARE imaju ključnu ulogu u odbrani ćelije od ROS.

*In vivo* studije su pokazale da akumulirana oksidativna oštećenja nastaju usled smanjenog nivoa endogenih antioksidanasa tj. enzima, kao što su superoksid dizmutaza (SOD), katalaza (CAT) i glutacion peroksidaza (Gpx) prije nego od povećane produkcije ROS [151]. Adekvatni i izbalansirani nivoi komponenti oba sistema su neophodni za normalnu ćelijsku funkciju. Većina enzimskih sistema uključenih u antioksidativnu odbranu ćelije ima svoju mitohondrijalnu i citozolnu varijantu. Tako mitohondrijalna manganaza-SOD (Mn-SOD) konvertuje O $_2^{\cdot-}$  do H $_2$ O $_2$  koga zatim dalje razgrađuju CAT i Gpx. U drugim ćelijskim kompartmentima, posebno u peroksizomima, aktivna je bakar/cink SOD (Cu/Zn-SOD). Mitohondrije imaju sopstveni *pool* glutaciona, neophodan za sintezu Gpx i pored toga što nema dokaza da se glutacion sintetiše u ovim ćelijskim organelama. Homeostaza glutaciona je izuzetno važna za održavanje balansa u ćelijskom redoks sistemu. Glutacion enzimska odbrana uključuje: Gpx, glutacion-S-transferazu (GST), glutaredoksine (Grx), tioredoksine (Trx) i peroksiredoksine (Prx) [152]. Ovi proteini međusobno reaguju formirajući redoks mrežu koja doprinosi regulisanju disfunkcionalnih oksidativnih puteva. Izoforme ovih proteina koje su specifične za mitohondrije mogu imati veći značaj u ćelijskom preživljavanju u odnosu na citozolne izoforme [153, 154]. Usled mitohondrijalne disfunkcije dolazi do smanjenja sinteze ATP, što redukuje redoks kontrolu posredovanu glutacionom jer je njegova sinteza ATP zavisna [155].

### **1.5.1 Mokraćna kiselina**

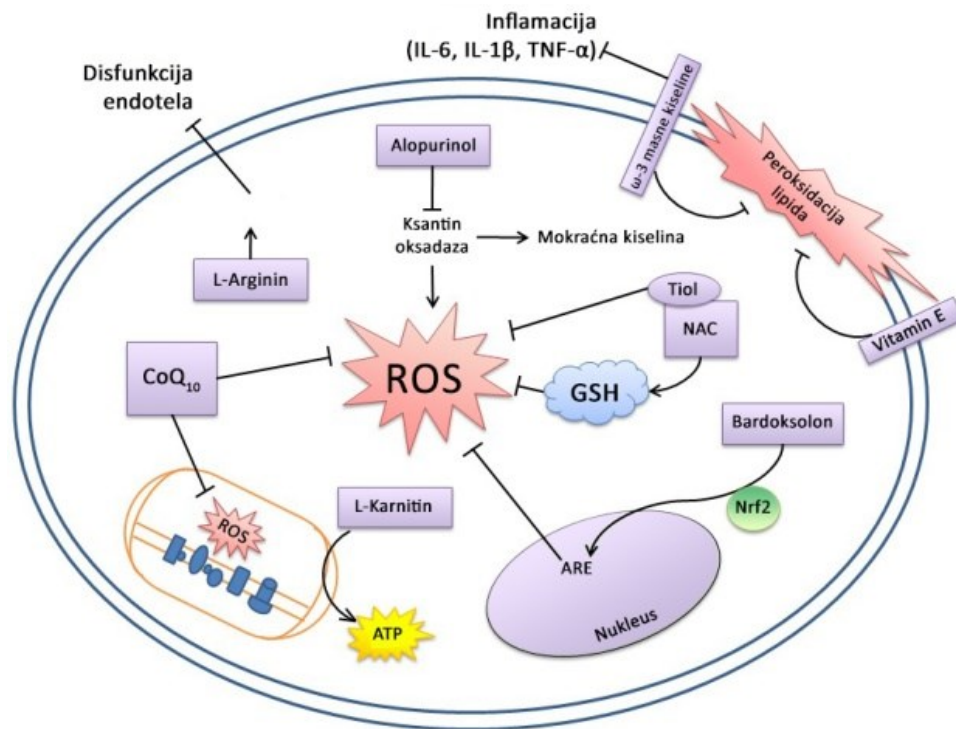
Mokraćna kiselina je krajnji proizvod metabolizma purina kod čovjeka [156]. Ona nije inertna supstanca već može imati brojna blagotvorna i štetna dejstva po zdravlje [157]. Najveći blagotvorni efekat mokraćne kiseline je njena antioksidativna sposobnost. Urat, solubilni oblik mokraćne kiseline u krvi, reaguje sa brojnim oksidansima, kao što su: H $_2$ O $_2$ , OH $\cdot$ , derivati azot monoksida (NO) i neutralizuje njihove toksične efekte [158]. Mokraćna kiselina takođe inhibira razgradnju i deaktivaciju ekstracelularne SOD [159]. Iako se smatra da mokraćna kiselina ima antioksidativnu ulogu u ekstracelularnom prostoru, kada uđe u ćeliju ona može imati razne negativne efekte [160]. U glatkomišićnim vaskularnim ćelijama mokraćna kiselina aktivira intracelularne protein kinaze (p38 i Erk  $\frac{1}{2}$ ) i nuklearne transkripcione faktore (*Nuclear Factor Kappa B* - NF- $\kappa$ B i *Activator Protein-1* - AP-1) dovodeći do proliferativnog i proinflamatornog fenotipa. Usled toga u vaskularnim glatkomišićnim ćelijama dolazi do povećane sinteze faktora rasta, vazokonstriktivnih supstanci, tromboksana, citokina, proinflamatornih

molekula i MCP-1 [161]. Mokraćna kiselina indukuje ekspresiju angiotenzin II receptora tipa 1 u endotelnim i vaskularnim glatkomišićnim ćelijama i lokalno aktivira renin-angiotenzin-aldosteron-sistem (RAAS) [160]. Hiperurikemija djeluje proinflamatorno stimulišući produkciju inflamatornih citokina IL-1 $\beta$ , IL-6 i TNF- $\alpha$  [157], doprinosi disfunkciji endotela inhibirajući proliferaciju i migraciju endotelnih ćelija i sekreciju NO [162]. Istovremeno urati pospješuju trombozu jer mogu pokrenuti adheziju i agregaciju trombocita [163], Iako se smatra da mokraćna kiselina pokazuje antioksidativna svojstva u plazmi, u toku njene reakcije sa oksidansima može doći do oslobađanja velike količine slobodnih radikala i štetnih posledica po ćelije, pogotovo u stanjima kada je koncentracija drugih antioksidanasa u plazmi niska [162]. Hiperurikemija je najčešća kod pacijenata koji imaju visok rizik od razvoja KVB (metabolički sindrom, hipertenzija, renalne i kardiovaskularne bolesti) [164, 165]. Visoka koncentracija mokraćne kiseline je prediktor razvoja renalnih i kardiovaskularnih oboljenja i prognostički je faktor povećanog morbiditeta i mortaliteta [166]. Nedavna studija na velikom uzorku pacijenata sugerisala je da postoji snažna zavisnost između serumskog nivoa mokraćne kiseline i KVB kod pacijenata sa znatno sniženim GFR [167].

### **1.5.2. Antioksidativna terapija u HRI i KVB**

Antioksidativna terapija u HRI i KVB je teorijski obećavajuća, ali za sada ipak kontroverzna. Uprkos velikom broju *in vitro* studija i *in vivo* studija na životinjama (obično na pacovima), zatim dokazane disregulacije endogenog oksidativno-antioksidativnog sistema u hroničnim bolestima, za neke antioksidanse nije dokazano da imaju efekta na poboljšanje redoks disregulacije [168, 169]. Neophodno je još što rigoroznijih studija o antioksidansima, koje bi identifikovale kako pozitivne tako i štetne ishode kod pacijenata i objasnile mehanizme djelovanja antioksidanasa [140].

N-acetilcistein (NAC) je esencijalni prekursor velikom broju endogenih antioksidanasa. Najznačajniji mehanizam koji uspijeva smanjiti ćelijski oksidativni stres je popunjavanje depoa glutaciona obezbjeđivanjem aminokiseline koja ulazi u sastav ovog tripeptida, L-cisteina, a koja nije dovoljno zastupljena u ishrani. Pored biosinteze glutaciona i sam molekul NAC može djelovati kao antioksidans hvatajući slobodne radikale i ponašajući se kao čistač – *scavenger* [170, 171]. Kod pacijenata sa HRI NAC se pokazao najkorisnijim, sa izuzetno visokim antioksidativnim i antiinflamatornim svojstvima upravo kod pacijenata na HD ili PD. Revijalne studije o antioksidativnom tretmanu pacijenata na HD su prepoznale NAC kao najefikasniji terapijski agens koji dovodi do smanjenja oksidativnog stresa u ovoj grupi pacijenata [172]. Kod pacijenata sa KVB NAC nije toliko istraživan. Crespo i saradnici su zaključili da NAC suplementacija poboljšava kardijačnu funkciju, ali ne usporava progresiju kardiomiopatije, dok su Tumor i saradnici dokazali da suplementacija sa NAC dovodi do smanjenja disfunkcije endotela uslovljene uremijskim toksinima [173, 174].



**Slika 6. Targeti antioksidativne terapije u ćeliji kod HRI i KVB (prilagođeno iz reference [140] Small DM, Gobe GC. *Oxidative Stress and Antioxidant Therapy in Chronic Kidney and Cardiovascular Disease, Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants*. 2013. InTech)**

Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) se može inkorporirati u plazma membranu ćelija, hvatajući slobodne radikale, najčešće peroksil radikale, zaustavljajući na taj način lančanu reakciju peroksidacije lipida [175]. Vitamin C (askorbinska kiselina) može direktno redukovati  $\alpha$ -tokoferol i na taj način povratiti njegovu antioksidativnu sposobnost, dok intracelularni glutation i lipoinjska kiselina djeluju tako na vitamin C i samim tim posredno i na  $\alpha$ -tokoferol, što je jedan od primjera ćelijske antioksidativne (redoks) mreže [176, 177]. Terapija vitaminom E je intenzivno proučavana kod HRI i KVB. Međutim, i pored dokaza o smanjenju oksidativnog oštećenja na kulturi proksimalnih tubularnih ćelija [178], nedostaje konsenzus o benefitu uzrokovanom suplementacijom [140]. Neke studije čak sugerišu da suplementacija vitaminom E povećava rizik od karcinoma prostate kod mladih, zdravih muškaraca [179]. Još uvijek kontroverzni podaci o suplementaciji vitaminom E posledica su razlika u dizajnim studija kao i različitim, nedefinisanim formulacijama korišćenog tokoferola [140]. Nedavne meta-analize su stanovišta da vitaminom E obložene dijalizne membrane mogu redukovati oksidativni stres i poboljšati inflamatorni status bez uticaja na adekvatnost dijalize [180].

Najveći endogeni nivoi koenzima Q10 (CoQ10) nalaze se u bubrežima i srcu, najvjerovatnije zbog intenzivnog aerobnog metabolizma i velike količine mitohondrija u ćelijama ovih organa. Odgovarajući endogeni nivoi CoQ10 su neophodni za normalno funkcionisanje mitohondrija, samim tim i ćelija, što predstavlja racionalno polazište za objašnjenje svrsishodnosti suplementacije ovim koenzimom. Fiziološka uloga CoQ10 je u mitohondrijalnom respiratornom lancu [140]. On svoju antioksidativnu ulogu ostvaruje direktno prevenirajući lipidnu peroksidaciju i indirektno interakcijom sa

$\alpha$ -tokoferolom [181]. Mnoge *in vitro* studije povezuju benefite od suplementacije CoQ10 sa njegovom sposobnošću da održava efikasan energetski metabolizam u mitohondrijama, a ne sa njegovom direktnom antioksidativnom ulogom [140]. Na mišem modelu je dokazano da suplementacija CoQ10 poboljšava dijastolnu disfunkciju lijeve komore i redukuje oksidativni stres [182]. Nivo CoQ10 se smanjuje sa starošću, ali još uvijek nema studija koje su mjerile endogene količine CoQ10 kod pacijenata sa HRI i/ili KVB. Takve studije bi bile ključne u definisanju skupine pacijenata koji bi imali benefit od suplementacije [140].

Inflamacija i fibroza su u isto vrijeme uzroci i posledice oksidativnog stresa [183]. Direktno djelovanje na procese koji dovode do inflamacije i fibroze sa specifičnijim farmakološkim agensima dovodi do indirektnog smanjenja oksidativnog stresa u hroničnim bolestima. Omega-3 polinezasićene masne kiseline (dokozaheksaenska kiselina – DHA i eikozapentaenska kiselina – EPA) imaju antiinflamatorna svojstva koja su dokazana brojnim *in vivo* i *in vitro* studijama. One se inkorporiraju u lipidnu membranu zamjenjujući arahidonsku kiselinu i na taj način sprečavaju stvaranje ROS preko ciklooksigenaza-2 i ksantin oksidaza inflamatornih puteva [140]. DHA/EPA takođe poboljšavaju endogene antioksidativne zaštitne sisteme kao što su  $\gamma$ -glutamyl-cisteinil ligaza i glutathion reduktaza [184]. U adipoznom tkivu riblje ulje mijenja profil genske ekspresije ka antiinflamatornom, pogotovo kod pacijenata sa HRI koji nisu na HD tretmanu [185]. *In vivo* studije su potvrdile da suplementacija polinezasićenim masnim kiselinama dovodi do poboljšanja renalne funkcije usled smanjenja oksidativnog stresa, inflamacije i tubulointersticijalne fibroze [186, 187]. Pored toga, uzimanje ribljeg ulja ima izuzetne benefite i za pacijente sa KVB. Dokazano je da redovan tretman ribljim uljem modulira nivoe lipida i ima antitrombotička i antihipertenzivna svojstva [188–191].

Alopurinol je inhibitor ksantin oksidaze. Samim tim smanjuje koncentraciju mokraćne kiseline i njene toksične efekte. On poboljšava ekskreciju mokraćne kiseline i blokira njenu reapsorpciju preko uratnog transportera u proksimalnim tubulima [192]. Inhibicija ksantin oksidaza zavisne produkcije NO $\cdot$  i ROS je mehanizam kojim alopurinol indirektno smanjuje oksidativni stres kod pacijenata sa HRI. Prospektivna, randomizovana studija sa 113 pacijenata kojima je GFR bio <60 mL/min/1,73m<sup>2</sup> i koji su primali određenu dozu alopurinola u toku dvije godine pokazala je povećanje GFR za 1,31 mL/min/1,73m<sup>2</sup> u odnosu na kontrolnu grupu i za 71% smanjenje rizika od razvoja KVB [193]. Terapija alopurinolom kod pacijenata na HD smanjuje rizik od razvoja KVB tako što snižava lipoproteine male gustine, trigliceride i mokraćnu kiselinu [194]. Velike, dugotrajne, intervencijske studije na populaciji pacijenata sa HRI i KVB su neophodne da bi se dokazala kardioprotektivna i renoprotektivna svojstva alopurinola [140].

Bradoksolon metil [2-cijano-3,12-dioksooleana-1,9(11)-dien-28-oična kiselina (CDDO-Me)] modulira puteve u ćeliji koji reaguju na oksidativni stres tako što je potentni aktivator Nrf2/keap1/ARE puta [140]. Od ovog eksperimentalnog farmakološkog agensa se mnogo očekivalo na polju regulisanja oksidativnog stresa kod pacijenata sa HRI i ESRD. Početne studije su pokazale da njegova primjena zaustavlja progresivno smanjenje GFR kod pacijenata sa HRI i DM tipa II [195]. CDDO-Me indukuje jak antioksidativni protektivni efekat sa antiinflamatornim i citoprotektivnim karakteristikama [196, 197]. Međutim, velika internacionalna studija BEACON koja je evaluirala efekte tretmana CDDO-Me kod pacijenata sa DM tip II i četvrtim stadijumom HRI je već nakon par mjeseci prekinuta u trećoj fazi zbog velikog broja



loših kardijačnih ishoda pacijenata (infarkt miokarda (IM), srčani zastoj, hospitalizacije i smrt). Uzrok tome je bila povećana retencija natrijuma i vode uslovljena administracijom CDDO-Me i dodatno opterećenje volumenom [198].

L-karnitin je esencijalni kofaktor neophodan za metabolizam slobodnih masnih kiselina i njihov transport u vidu acil-karnitina u mitohondrije, gdje se katabolizam masnih kiselina nastavlja  $\beta$ -oksidacijom. Upravo zbog toga L-karnitin je neophodan za produkciju ATP-a i obezbjeđivanje celularne energije. Acil-karnitini učestvuju u uklanjanju toksičnih međuproizvoda metabolizma masti. L-karnitin se uglavnom unosi u organizam preko hrane, ali se može i endogeno sintetisati iz aminokiselina L-lizina i metionina [199]. Suplementacija L-karnitinom je najviše benefita pokazala kod pacijenata na HD tretmanu, poboljšavajući anemiju i druge kardiovaskularne komorbiditete. Nivoi L-karnitina značajno su niži kod pacijenata na HD u odnosu na pacijente sa HRI koji nisu na dijaliznom tretmanu i na zdrave pacijente. Suplementacija L-karnitinom ublažava abnormalnosti lipida i poboljšava kardijačnu disfunkciju kod HD pacijenata [200, 201]. Takođe, suplementacijom se smanjuje hipertrofija lijeve komore [202] i poboljšava se periferni vaskularni sistem mehanizmom koji, kako se smatra, smanjuje nivo homocisteina [203]. Ye i saradnici su mišljenja da L-karnitin smanjuje oksidativno oštećenje tubularnih ćelija bubrega i posledično smanjuje apoptozu, redukujući stvaranje ROS u mitohondrijama i upravo tim antiapoptotskim mehanizmom objašnjavaju redukciju kardiomiopatije kod pacijenata na HD koji uzimaju L-karnitin [204].

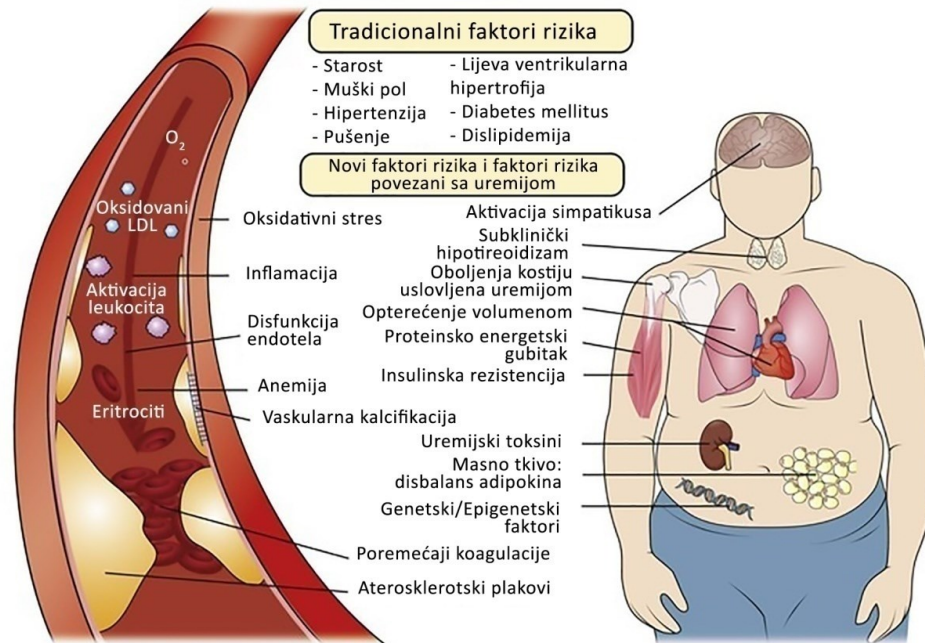
L-arginin je fiziološki prekursor NO. Uključen je u NO signalizaciju i na taj način poboljšava funkciju endotela. Kod pacijenata sa HRI često se javljaju ateroskleroza, tromboembolijske komplikacije i disfunkcija endotela, što se objašnjava izmijenjenom sintezom vazodilatatornih faktora [34]. Sinteza L-arginina odvija se u jetri i u bubrezima, s tim što bubrezi održavaju homeostatske plazma nivoe L-arginina jer se sinteza u jetri odvija iz nutritivnih komponenti [205]. U proksimalnim tubularnim ćelijama sintetiše se najveća količina L-arginina, pa oštećenje bubrega i atrofija dovode do smanjenja njegovog stvaranja [206]. Rajapaske i saradnici su dokazali na modelu miša da oštećeni renalni transport L-arginina dovodi do hipertenzije [207], a Huang i saradnici su pokazali da suplementacija L-argininom tokom oksidativnog stresa smanjuje nivo malon dialdehida (MDA), kao i aktivnost mijeloperoksidaze (MPO) i ksantin oksidaze i povećava glutation u bubrežnom i srčanom tkivu miševa [208]. Na osnovu svih dokaza suplementacija L-argininom bi mogla dovesti do obnavljanja disregulisanog NO signalnog puta, a time i do poboljšanja funkcije endotela u hroničnim renalnim i hroničnim KVB [140].

Ciljani polifarmaceutski pristup korišćenjem više različitih antioksidanasa, sa različitim mehanizmima djelovanja, u teoriji bi doveo do poboljšanja funkcije svih ćelija i organa. Međutim, mnogobrojne kliničke studije su dovele do oprečnih rezultata, dok su studije na animalnim modelima dokazale benefite takvog pristupa kod HRI i KVB. Zbog kompleksne prirode oksidativnog stresa i velikog broja puteva koji dovode do istog u ćeliji, primjena različitih antioksidanasa koji ciljano djeluju na većinu ili svaki aberantni put bi imala za cilj poboljšanje ovih hroničnih bolesti. Istraživanja na polju antioksidativne terapije kod HRI i KVB bi trebala istovremeno mjeriti oksidativni stres u organizmu i patofiziološke ishode bolesti [140].

## 1.6 KARDIOVASKULARNE BOLESTI U HRI

Rizik od razvoja KVB kod pacijenata sa HRI ne može se objasniti samo tradicionalnim faktorima rizika kao što su: hipertenzija, dislipidemija, pušenje, DM ili gojaznost [209].

Faktori rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti kod pacijenata sa hroničnom renalnom insuficijencijom



**Slika 7. Shematski prikaz tradicionalnih i novih (specifičnih za uremiju) faktora rizika za KVB u HRI (Preuzeto i prilagođeno iz reference [11] Stenvinkel P, Carrero JJ, Axelsson J, Lindholm B, Heimbürger O, Massy Z. Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in the chronic kidney disease patient: how do new pieces fit into the uremic puzzle? CJASN 2008;3:505-21.)**

Uremijski milje uzrokuje širok spektar metaboličkih poremećaja za koje je poznato da povećavaju rizik od razvoja KVB. Neki od njih su: oksidativni stres, inflamacija, disfunkcija endotela, vaskularna kalcifikacija [210]. Arterioskleroza nastaje kako zbog poremećaja u *tunica intima*, tako i zbog kalcifikacije *tunica media* zida krvnog suda koji mogu zahvatiti male i velike arterije [211]. Disfunkcija endotela se javlja u ranim stadijumima razvoja HRI i značajno doprinosi aterosklerozi [11]. Asimetrični dimetil arginin (ADMA) inhibira produkciju NO, a njegov efekat se pojačava u prisustvu inflamacije. Sve to zajedno dovodi do disfunkcije endotela [212]. Inflamacija dovodi do aberantne DNK metilacije [213] koja je jedan od mehanizama regulacije ekspresije gena, što može imati ulogu u aterosklerozi [214]. Hipermetilacija je povezana sa inflamacijom i povećanim mortalitetom kod pacijenata sa HRI [215]. Kardiovaskularna kalcifikacija je česta kod ovih pacijenata [216]. Najvjerojatniji mehanizam je preko fetuina-A, inhibitora ekstraskelne kalcifikacije koji je, kao i serumski albumin, negativni reaktant akutne faze [217]. Fetuin-A je obično snižen u inflamatornoj uremijskoj sredini i pozitivno korelira sa preživljavanjem kod pacijenata na HD i PD [218], dok je osteoprotegerin, koji je u tijesnoj vezi sa progresijom kalcifikacije koronarnih arterija i mortalitetom, povećan kod ESRD pacijenata [11]. U toku

kalcifikacije *intima media* dolazi do diferencijacije glatko-mišićnih ćelija u ćelije slične osteoblastima [219]. Zbog toga u prisustvu dovoljnih količina kalcijuma i fosfata dolazi do stvaranja matriksa sličnog onome u kostima i mineralizacije *intima media* krvnog suda [220]. Vaskularna kalcifikacija i inflamacija u HRI su međusobno zavisne, dijelom posredstvom retencije fosfata i/ili oboljenja koštanog sistema [221].

Povezanost inflamacije, malnutricije i ateroskleroze u HRI prvi put je opisana krajem prošlog vijeka tako što je ustanovljeno da su visoki nivoi CRP (>20mg/L) češći kod pothranjenih pacijenata na HD i da pothranjeni pacijenti koji se nalaze u inflamatornom stanju češće imaju plakove u karotidama [222]. Malnutricija, inflamacija i ateroskleroza kod pacijenata na HD koreliraju sa kalcifikacijom krvnih sudova, opterećenjem volumenom, nealkoholnom masnom jetrom, povećanim transportom kroz peritoneum, poremećenom saprofitnom florom u crijevima, depresijom i kliničkim ishodima pacijenata u toku dijalize ili nakon renalne transplantacije [223–229]. Istraživanje mogućih patofizioloških procesa koji vode do PEG i KVB kako bi se moglo terapijski intervenisati na njih i dalje je interes stručne javnosti [84, 230].

## 2. MATERIJALI I METODE

Ovo istraživanje bilo je dio projekta pod nazivom: “Biomarkeri u predikciji razvoja koronarnih vaskularnih bolesti kod pacijenata na hemodijalizi” od 2012. godine. Projekat su podržali Ministarstvo zdravlja i Ministarstvo nauke Crne Gore. Projekat je zamišljen kao longitudinalna studija u kojoj su se pacijentima na HD tretmanu pratili biohemijski i antropometrijski parametri, internistička i kardiološka procjena uz urađeni ehokardiografiju i EKG na početku studije, nakon 12 i 24 mjeseca.

### 2.1. ISPITANICI

Svi ispitanici su bili na ekstrakorporalnoj hemodijaliznoj terapiji na Odjeljenju za hemodijalizu Klinike za urologiju i nefrologiju Kliničkog centra Crne Gore (KCCG). Studija je odobrena od strane Etičkog komiteta KCCG, a svi ispitanici dali su pismenu saglasnost za učešće u istraživanju.

Iz studije su prethodno isključeni pacijenti koji su na hemodijalizi proveli kraće od tri mjeseca, kao i pacijenti sa dijagnostikovanim malignitetima, stečenom imunodeficijencijom, metaboličkim oboljenjima, cirozom jetre i pacijenti na antiviralnoj terapiji.

Pacijenti su podvrgavani HD tretmanima tri puta sedmično, pri čemu je jedan tretman trajao 4–4,5 sati.

Većina potrebnih anamnestičkih podataka pacijenata (starost, pol, primarno renalno oboljenje, dužina trajanja dijalize od prvog do ispitivanog HD tretmana, medicinska istorija, trenutna terapija) uzeta je iz njihovih istorija bolesti, dok su sami pacijenti popunjavali upitnik u kojima su dali informacije o svojim pušačkim i dijetetskim navikama, uzimanju suplemenata, fizičkoj aktivnosti, mentalnom statusu i kvalitetu života.

Pacijenti nisu bili hospitalizovani dvije sedmice prije ispitivanja i ni jedan od njih nije imao simptome akutnog koronarnog sindroma (AKS).

Svim pacijentima izmjereno je krvni pritisak (KP) prije i poslije HD tretmana. Predijalizni KP mjereno je prije početka HD tretmana, nakon mirovanja od 15 minuta, a postdijalizni KP je mjereno 15 minuta nakon završetka HD.

Naše ispitivanje uključilo je 62 pacijenta (31 muškarac i 31 žena) kojima su se bazalna mjerenja radila u septembru 2013. godine, a klinički ishodi su se pratili do septembra 2015. godine i 17 dodatnih pacijenata (8 muškaraca i 9 žena) koji su započeli sa HD tretmanom između dva evaluaciona perioda definisana projektom, a koji su ispunjavali uslove za ulazak u studiju. Tim pacijentima ispitivanje je rađeno u septembru 2014. godine, a klinički ishodi su se pratili do septembra 2016. godine. Tako smo na kraju pratili kliničke ishode kod 79 pacijenata (39 muškaraca i 40 žena) tokom dvije godine. Najvažniji klinički ishod koji smo pratili bio je mortalitet (opšti i KVB).

## 2.2. KARAKTERISTIKE HEMODIJALIZNE TERAPIJE

U hemodijaliznom tretmanu korišćeni su kapilarni dijalizatori firme Fresenius Medical Care (Bad Homburg, Njemačka) - 5008 i 5008s sa polisulfonskim – PVP Helixone® membranama.

Karakteristike hemodijaliznog tretmana tj. doza i adekvatnost jednog tretmana određivana je Kt/V vrijednošću i brzinom snižavanja koncentracije uree (*Urea Reduction Ratio* – URR). U Kt/V formuli K se odnosi na klirens dijalizatora, t na vrijeme trajanja jednog dijaliznog tretmana, a V je volumen vode u tijelu pacijenta (približno 60% tjelesne težine). Kt/V računa softver samog dijalizatora, a URR je izračunata prema formuli:

$$URR = \frac{\text{Urea prije HD} - \text{Urea poslije HD}}{\text{Urea prije HD}} \times 100$$

HD tretman se smatra adekvatnim ako je Kt/V  $\geq 1,2$ , a URR  $\geq 65\%$ .

## 2.3. ANTROPOMETRIJSKI PODACI

Svim pacijentima mjerena je tjelesna visina (TV), dok se tjelesna težina (TT) mjerila dva puta i to prije i poslije HD tretmana. TT poslije HD tretmana ili „suva tjelesna težina“ tj. tjelesna težina bez viška vode u tijelu pacijenta se na osnovu ISRNM preporuke [31] koristila za određivanje BMI po formuli:

$$BMI = \frac{\text{Suva tjelesna težina (kg)}}{\text{Tjelesna visina (m)}^2}$$

Pacijentima su izmjereni obimi struka, nadlaktice i kukova i izračunat je odnos između obima struka i obima kukova (*Waist to Hip Ratio* W/H).

Kaliperom je mjerena debljina četiri kožna nabora (iznad bicepsa, iznad tricepsa, subskapularni i suprailijačni) i iz njihove sume je određen procenat tjelesnih masti. Za prosječne vrijednosti procenta tjelesnih masti mogu se smatrati vrijednosti 15–17% kod muškaraca i 25–27% kod žena. Međutim, procenat se znatno mijenja u odnosu na godine starosti.

Za sve pacijente je izračunat malnutricija–inflamacija *score* (*Malnutrition Inflammation Score* - MIS). Kalantar-Zadeh i saradnici razvili su MIS [231] metod za procjenu nutritivnog statusa pacijenata na HD tretmanu. Metod se zasniva na podacima iz medicinske istorije pacijenta, fizičkom pregledu, BMI i laboratorijskim parametrima (4 sekcije) i evaluiira 10 komponenti. Svaka komponenta MIS ima četiri nivoa ozbiljnosti koji se označavaju od 0 – normalan, do 3 – ozbiljno abnormalan. Zbir svih 10 komponenti MIS može biti od 0 (normalan), do 30 (ozbiljno neuhranjen). Viši skor reflektuje ozbiljniji stepen malnutricije i inflamacije.

**Tabela 4. Komponente MIS; upitnik za određivanje MIS**

**A) Medicinska istorija pacijenta**

*1. Promjene u suvoj TT pacijenta u proteklih 3-6 mjeseci*

0	1	2	3
Bez smanjenja u suvoj TT ili smanjenje < 0,5 kg	Blago smanjenje suve TT; >0,5 kg ili < 1 kg	Gubitak težine > 1 kg ili < 5%	Gubitak težine >5%

*2. Dijetetski unos*

0	1	2	3
Dobar apetit bez pogoršanja dijetetskog unosa	Suboptimalni unos čvrste hrane	Umjereno smanjenje unosa čvrste hrane do kompletno tečnog dijetetskog režima	Hipokalorijski tečni režim do gladovanja

*3. Gastrointestinalni simptomi*

0	1	2	3
Bez simptoma sa dobrim apetitom	Blagi simptomi, loš apetit ili povremena mučnina	Povremeno povraćanje ili umjereni GI simptomi	Česte dijareje ili povraćanje ili teška anoreksija

*4. Opšti funkcionalni kapacitet (funkcionalni poremećaji povezani sa nutritivnim statusom)*

0	1	2	3
Normalan do odličan; pacijent se osjeća dobro	Povremene poteškoće sa kretanjem ili čest osjećaj umora	Teškoće u obavljanju osnovnih aktivnosti (npr. odlazak u toalet)	Slaba pokretnost ili nepokretnost ili malo do nimalo fizičke aktivnosti

*5. Komorbiditeti vezani sa broj godina provedenih na HD tretmanu*

0	1	2	3
Dijaliza < 1 god; zdravstveno stanje dobro	Dijaliza 1-4 godine ili blagi komorbiditeti (isključujući ozbiljne komorbiditete)	Dijaliza >4 godine ili umjereni komorbiditeti (uključujući jedan ozbiljan komorbiditet)	Bilo koji težak, multipli komorbiditet (2 ili više ozbiljna komorbiditeta)

Pod ozbiljnim komorbiditetima ubrajaju se: kongestivna srčana insuficijencija III ili IV, razvijen klinički manifestum AIDS-a, koronarna arterijska bolest, umjerena do teška hronična opstruktivna bolest pluća, ozbiljne neurološke sekvele, metastatski maligniteti ili hemoterapija

**B) Fizički pregled**

*6. Smanjeni depoi masti ili gubitak subkutane masti (ispod oka, triceps, biceps, grudi)*

0	1	2	3
Normalan (bez promjene)	Blag	Umjeren	Težak

*7. Znaci gubitka mišićne mase (slepoočnice, ključne kosti, skapule, rebra, kvadricepsi, koljena, interosealni mišići šake)*

0	1	2	3
Normalan (bez promjene)	Blag	Umjeren	Težak

**C) BMI**

*8. "Body mass index"*

0	1	2	3
$\geq 20 \text{ kg/m}^2$	18-19,99 $\text{kg/m}^2$	16-17,99 $\text{kg/m}^2$	<16 $\text{kg/m}^2$

**D) Laboratorijski parametri**

*9. Serumski albumin*

0	1	2	3
$\geq 40 \text{ g/L}$	35-39 $\text{g/L}$	30-34 $\text{g/L}$	<30 $\text{g/L}$

*10. Serumski transferin*

0	1	2	3
$\geq 2,5 \text{ g/L}$	2,0-2,49 $\text{g/L}$	1,50-1,99 $\text{g/L}$	< 1,50 $\text{g/L}$

## 2.4. UZORCI

Uzorci su od pacijenata uzeti prije i poslije dijaliznog tretmana u toku prve HD sesije u sedmici. Ispitanicima je venska krv uzeta u vakuum epruvete sa separacionim gelom i EDTA. Serum i plazma za određivanje biohemijskih parametara odvojeni su od krvnih ćelija u roku od jednog sata centrifugiranjem na 3000 obrtaja/min 10 minuta. Serum je nakon toga podijeljen u alikvota od 400  $\mu$ L. Iz jednog alikvota se istog dana radio određen broj pretraga, a dva alikvota su zamrznuta na  $-70^{\circ}\text{C}$  do izvođenja ostalih pretraga.

Kompletna krvna slika je istog dana određena iz EDTA pune krvi, a preostali dio se čuvao do tri dana na  $4-8^{\circ}\text{C}$  i zatim iskoristio za određivanje SOD u eritrocitima.

Iz EDTA plazme određivan je MPO.

U Centru za kliničko-laboratorijsku dijagnostiku (CKLD) KCCG istog dana iz seruma su se određivali: urea, kreatinin i mokraćna kiselina (Uric) prije i poslije dijalize, prije HD tretmana iz seruma su određeni i: holesterol (TC), trigliceridi (Trig), HDL-C, LDL-C, Apo AI, Apo B, albumin, prealbumin, retinol vezujući protein (*Retinol Binding Protein* – RBP), transferin, hsCRP, IL-6, butiril holinesteraza (BuChE), homocistein (Hcy), IGF-1, IGFBP-3, totalni antioksidativni status (TAS) i hsTnI. Iz plazme je određivan mijeloperoksidaza (MPO), a iz pune krvi SOD.

U laboratoriji Instituta za medicinsku biohemiju, Farmaceutskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu određeni su: totalni oksidativni status (TOS), malon dialdehid (MDA), prooksidativno-antioksidativni balans (PAB) i rezistin.

## 2.5. ODREĐIVANJE BIOHEMIJSKIH PARAMETARA

Većina biohemijskih parametara određena je automatizovanim metodama koje su u rutinskoj primjeni u CKLD KCCG.

1. Urea, kreatinin, uric, TC, trig, HDL-C, LDL-C i albumin određivani su rutinskim spektrofotometrijskom metodama na biohemijskom analizatoru Cobas c6000 (Roche Diagnostic, GmbH, Mannheim, Njemačka).
2. Aktivnost BuChE određivana je spektrofotometrijskom metodom na biohemijskom analizatoru Architect c8000 (Abbott Laboratories, Diagnostic Division, Abbott Park, IL, SAD).
3. Koncentracije Apo AI, Apo B, prealbumin, RBP, transferin, hsCRP, Hcy određene su nefelometrijskom metodom na analizatoru BNII (Siemens, Healthcare GmbH, Erlangen, Njemačka).
4. IL-6, IGF-1 i IGFBP-3 mjereni su na analizatoru Immulite 2000 (Siemens, Healthcare GmbH, Erlangen, Njemačka) hemiluminiscentnom imunohemijskom metodom.
5. hsTnI i MPO su određivani na analizatoru Architect i2000 (Abbott Laboratories, Diagnostic Division, Abbott Park, IL, SAD).
6. Koncentracija rezistina mjerena je na Institutu za medicinsku biohemiju sendvič ELISA kitom proizvođača R&D Systems Inc. (Minneapolis, MN, SAD).

### 2.5.1. Određivanje TAS

TAS smo mjerili metodom koju su razvili Miller i saradnici [232] i komercijalnim testom firme Randox Laboratories Limited (Crumlin County Antrim, Velika Britanija) aplikovanom na biohemijski analizator. Princip testa zasniva se na inkubaciji ABTS<sup>®</sup> (2,2'-Azino-di-[3-elitbenziazolin sulfonat] sa peroksidazom (metmioglobin) i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pri čemu nastaje obojeni plavo-zeleni radikal katjon ABTS<sup>®,+</sup>. U prisustvu antioksidanasa dolazi do supresije nastanka boje čiji se intenzitet mjeri.

### 2.5.2. Određivanje aktivnosti SOD u eritrocitima

SOD smo određivali komercijalnim testom firme Randox Laboratories Limited (Crumlin County Antrim, Velika Britanija). Princip testa zasniva se na fiziološkoj ulozi SOD kao katalizatora reakcije dismutacije toksičnog superoksid radikala (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i O<sub>2</sub>. Reakcija započinje dejstvom ksantin oksidaze na ksantin pri čemu nastaje O<sub>2</sub><sup>-</sup> koji zatim reaguje sa I.N.T. (2-(4-jodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolijum hlorid i formira se crveno obojeni formazan. SOD prisutna u uzorku inhibira poslednju reakciju dismutacijom O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Aktivnost SOD se mjeri preko određivanja stepena inhibicije te reakcije. Jedna jedinica SOD uzrokuje inhibiciju brzine reakcije I.N.T. redukcije od 50%.

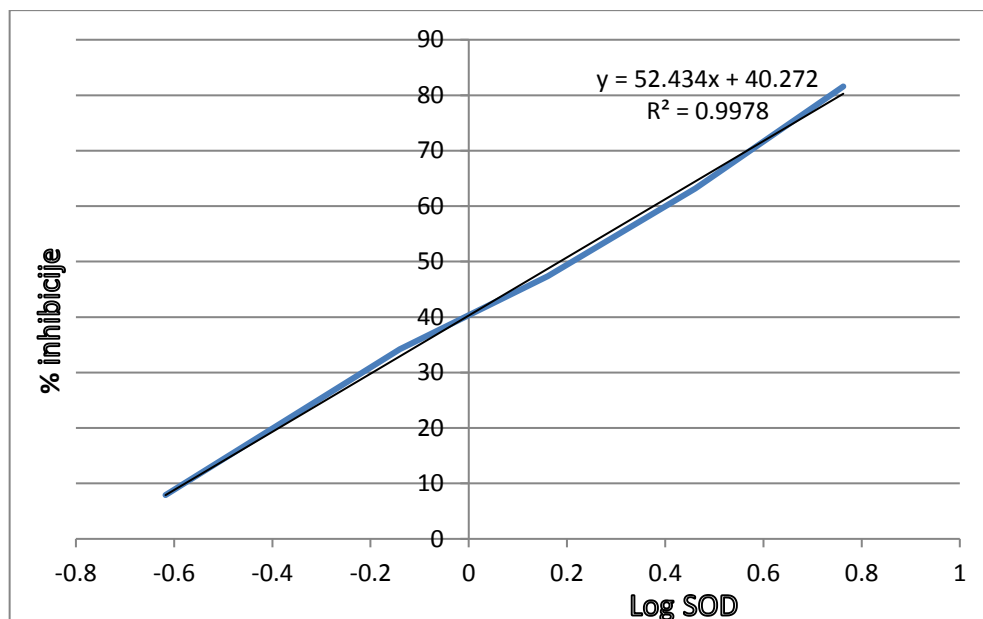
Uzorak se priprema tako što se centrifugiranjem na 3000 obrtaja/min odvoje ćelije od plazme. Plazma se aspirira, a eritrociti isperu četiri puta sa 0,9% rastvorom NaCl pri čemu se nakon svakog ispiranja nanovo centrifugiraju. Nakon poslednjeg ispiranja eritrociti se liziraju sa destilovanom vodom, a lizat eritrocita se razblaži u 0,01 mol/L fosfatnom puferu pH 7,0 kako bi % inhibicije bio između 30%-60%.

Standardna kriva se pravi u šest tačaka od standarda SOD i njegovih dilucija: 1:2, 1:4, 1:8 i 1:24 sa fosfatnim puferom i samim fosfatnim puferom (S<sub>1</sub> u kojem je SOD aktivnost 0 U/mL). Reakcija se mjeri inicijalno i nakon 3 minuta i koristi se  $\Delta A/\Delta t$  vrijednost za preračun.  $\Delta A_{S1/min}$  predstavlja brzinu neinhibirane reakcije – 100%. Procenat inhibicije se računa iz formule:

$$\% \text{ inhibicije} = 100 - \frac{(\Delta AS(\text{uzorka, standarda}) / \text{min} \times 100)}{\Delta AS1/\text{min}}$$

Standardna kriva se pravi na osnovu % inhibicije svakog standarda naspram Log<sub>10</sub> aktivnosti SOD u standardima. Aktivnost SOD u uzorku računa se iz standardne krive i množi sa predilucijom uzorka.





**Slika 8. Standardna kriva za odođivanje SOD**

### **2.5.3. Odođivanje malon dialdehida (MDA)**

MDA je odođivan na Institutu za medicinsku biohemiju spektrofotometrijskim testom koji se zasniva na apsorpcionom maksimumu kompleksa malondialdehida i ostalih tiobarbiturna kiselina-reagujućih supstanci (TBARS) sa tiobarbiturnom kiselinom.

### **2.5.4. Odođivanje TOS**

TOS se, takođe, odođivao na Institutu za medicinsku biohemiju metodom Erel i saradnika [233]. Test je zasnovan na oksidaciji feru u feri jon u prisustvu oksidanata u kiseloj sredini. Feri jon zatim gradi kompleks sa ksilenol-oranžom. Intenzitet obojenja se mjeri spektrofotometrijski.

### **2.5.5. Odođivanje PAB**

PAB se odođivao metodom Almadari i saradnika [234] koja je modifikovana na Farmaceutskom fakultetu u Beogradu. Princip metode zasniva se na 3,3',5,5'-tetrametilbenzidinu (TMB) i njegovom katjonu koji se koriste kao redoks indikatori. Oni učestvuju u dvjema simultanim reakcijama. Reakcija  $H_2O_2$  i hromogena je enzimski katalizovana enzimom peroksidazom, pri čemu oksidovanjem TMB-a nastaje intenzivno plavo obojeni proizvod. Za razliku od toga, reakcija mokračne kiseline i hromogena je nekatalizovana hemijska reakcija u kojoj se TMB katjon redukuje do bezbojnog proizvoda. Standardni rastvori pripremaju se miješanjem u različitim odnosima 0–100% 250 $\mu$ mol/L  $H_2O_2$  i 10 mmol/L mokračne kiseline. Koeficijent varijacije u seriji (*intra-assay*) je bio 6,6%, dok je iz dana u dan (*inter-assay*) bio 7,2%.

## 2.6. STATISTIČKA ANALIZA

Statistička obrada i analiza podataka izvršena je programima STATISTICA 6.1 StatSoft inc. 1983–2003 i IBM® SPSS® Statistics Version 21.

Uzorak bolesnika opisan je deskriptivnom statistikom (starost, broj dana na HD) i frekvencijskim tablicama (pol, osnovna bolest, pušenje, ishod). Za izmjerene parametre procijenjena je normalnost distribucije podataka.

Za parametre čije vrijednosti slijede normalnu distribuciju za testiranje statističke razlike između bolesnika sa rizikom od kardiovaskularnih bolesti i bolesnika s ostalim bolestima, kao i za testiranje statističke razlike između pacijenata koji su preživjeli i opšte i KVB grupe mortaliteta, korišten je t-test za nezavisne uzorke, a za parametre čije vrijednosti značajno odstupaju od normalne distribucije, korišten je Mann–Whitney U-test.

Statistička povezanost laboratorijskih parametara sa priznatim faktorima rizika za KVB testirana je korelacionom i regresionom analizom.

Za procjenu uticaja laboratorijskih parametara u predikciji opšteg mortaliteta i mortaliteta uzrokovanog kardiovaskularnim bolestima, korištena je analiza preživljavanja i to Regression model for censored data – Proportional hazard (Cox) regression, Kaplan-Meier kriva i log-rank test.

Za poređenje nivoa biomarkera ispitivanih u studiji po tercilima hsTnI, mokraćne kiseline nakon HD, prealbumina, IL-6, PAB korištena je ANOVA sa post hoc Tukey testom.

Za testiranje statističke razlike između vrijednosti izmjerenih parametara na početku istraživanja i nakon godinu dana korišten je t-test za zavisne uzorke kod parametara čije vrijednosti slijede normalnu distribuciju, odnosno Wilcoxon test kod parametara čije vrijednosti značajno odstupaju od normalne distribucije.

Rezultati dobijeni statističkom obradom prikazani su grafički i numerički (tabelarno). Statističko testiranje provedeno je na nivou značajnosti od 95% ( $\alpha=0,05$ ).

### 3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi istraživanja ove studije bili su:

1. Opisati eventualno prisutnu razliku između svih obrađivanih biomarkera u grupi pacijenata kojima osnovna dijagnoza predstavlja rizik od nastanka KVB i u drugoj neKVB grupi pacijenata.
2. Opisati eventualnu povezanost biomarkera ispitivanih u ovoj studiji sa tradicionalnim faktorima rizika, kao i potencijalnu sposobnost biomarkera, tradicionalnih faktora rizika u predikciji mortaliteta.
3. Odrediti značaj antropometrijskih parametara u našoj populaciji pacijenata.
4. Odrediti parametre inflamacije (hsCRP, IL-6 i adipokin – rezistin) kod pacijenata na HD tretmanu i utvrditi razlike između pacijenata koji su preživjeli dvogodišnji period monitoringa i onih koji nisu preživjeli; utvrditi eventualni prognostički značaj ovih parametara u predikciji opšteg i KVB mortaliteta kod ispitivanih pacijenata.
5. Odrediti biomarkere nutritivnog statusa (albumin, prealbumin, RBP, transferin, IGF-1, IGFBP-3 i BuChE) kod svih pacijenata kao i njihovu sposobnost predikcije mortaliteta.
6. Odrediti markere oksidativnog stresa (mokraćna kiselina, MPO, SOD, TAS, TOS, PAB, MDA) i njihov prognostički značaj u predikciji mortaliteta.
7. Odrediti koncentraciju hsTnI kao markera ishemijskog oštećenja miokarda kod ovih pacijenata i procijeniti njegovu sposobnost u predikciji opšteg i KVB mortaliteta.
8. Procijeniti promjenu parametara u dva mjerenja sa razmakom od jedne godine.

## 4. REZULTATI

U studiju je uključeno 79 pacijenata (39 muškaraca i 40 žena). Prosječna starost ispitanika je bila  $57,6 \pm 10,4$  godine. Medijana trajanja HD tretmana bila je 710 dana sa interkvartilnim rasponom 354,5–2253,5). Među ispitanicima je bilo 39,2% pušača. Karakteristike hemodijalizne terapije ustanovljene su na osnovu kT/V vrijednosti i URR. U tabeli 5 prikazane su osnovne kliničke karakteristike pacijenata. Na slikama 9 i 10 prikazana je raspodjela pacijenata prema starosti i dužini trajanja hemodijalize.

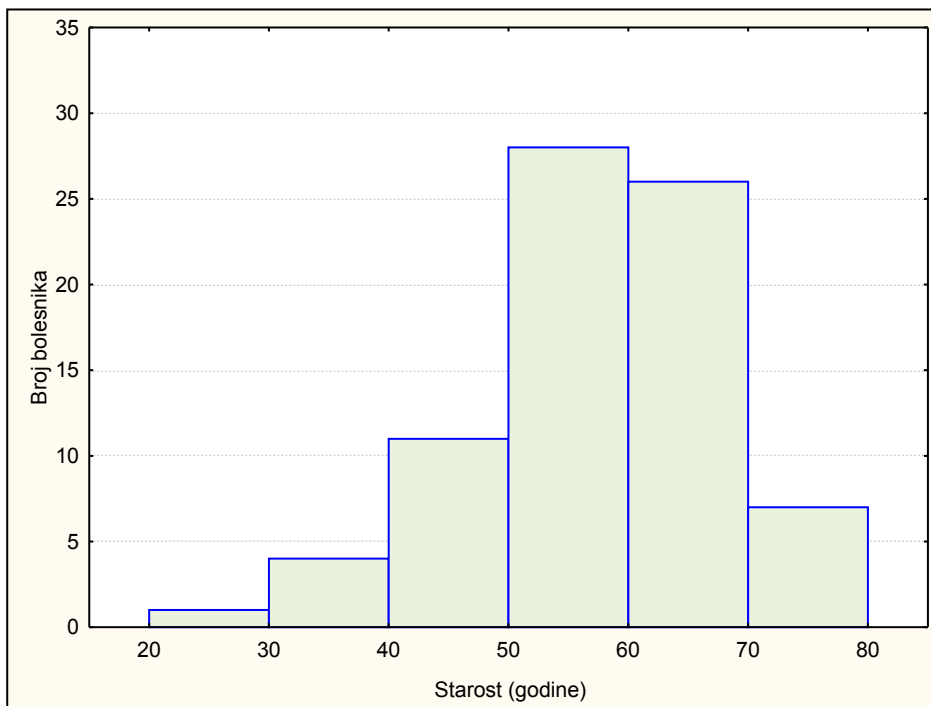
Etiologija HRI u najvećem procentu je bila hipertenzivna nefroskleroza (29,1%), zatim autozomalna dominantna policistična bolest bubrega (17,8%), dijabetična nefropatija (12,8%), hronični glomerulonefritis (10,1%), nefrolitijaza (5,1%), hronični pijelonefritis (3,8%), vezikoureteralni refluks i endemska nefropatija (2,5%), vaskulitis sa pozitivnim autoneutrofilnim citoplazmatskim antitelima (pANCA vaskulitis) (1,3%). Ostali poznati, ali manje frekventni uzroci su doveli do ESRD kod 12,4% pacijenata, a kod 2,6% pacijenata nije bio poznat uzrok HRI.

Sve pacijente smo prvo podijelili na one čija je osnovna bolest predstavljala jedan od tradicionalnih faktora rizika za razvoj KVB (hipertenzivna nefroskleroza, dijabetična nefropatija i pANCA vaskulitis) i ostale pacijente čija se osnovna bolest nije tradicionalno vezivala za rizik od razvoja kardiovaskularnih komplikacija. U prvoj grupi (KVB rizik) našlo se 34 pacijenta, tj. 43,2%, a u drugoj (Ostalo) 43 pacijenta (54,4%).

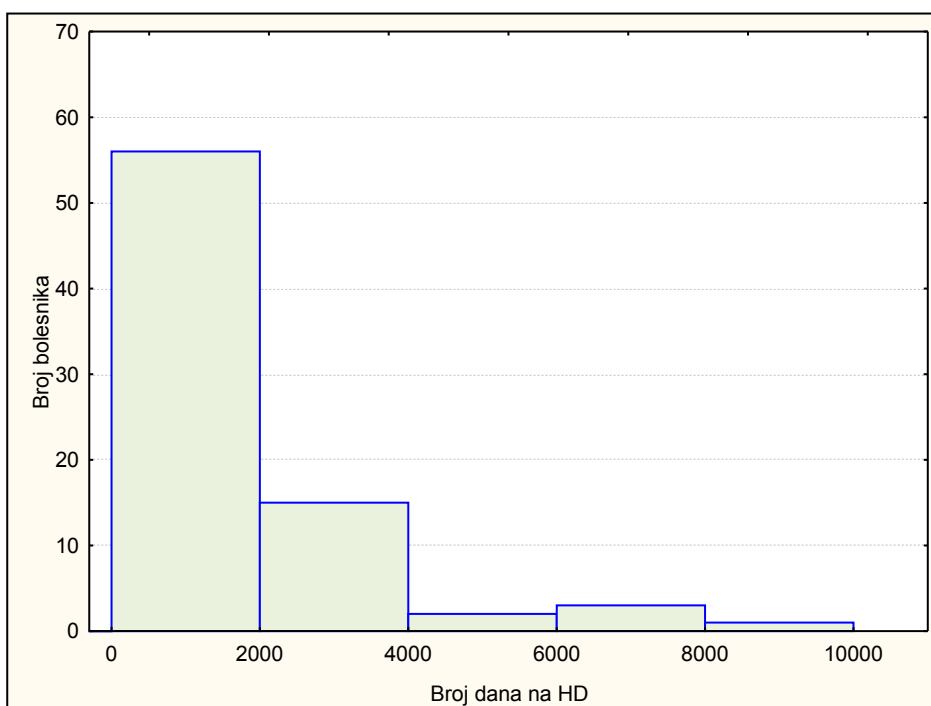
Nakon dvije godine 28 pacijenata (35,4%) je umrlo. Od toga je kod 11 pacijenata (13,9%) egzitus bio uzrokovan KVB.

**Tabela 5. Kliničke karakteristike pacijenata (n=79)**

<b>Varijable</b>	<b>Srednja vrijednost ± SD Medijana (25-ti – 75-ti percentil) ili broj (%)</b>
<b>Demografske karakteristike</b>	
Pol (m/ž); broj (%)	39(49,4%) / 40(50,6%)
Starost; godine	57.6±10,42
Pušači; broj (%)	31(39,2%)
<b>Karakteristike hemodijaliznog tretmana</b>	
Trajanje HD; dani	710 (354,5-2253,5)
Kt/V	1,14±0,15
URR, %	60,1±10,2
<b>Etiologija HRI; %</b>	
Hipertenzivna nefroskleroza	29,1
Autozomalna dominantna policistična bolest bubrega	17,8
Diabetična nefropatija	12,8
Hronični glomerulonefritis	10,1
Nefrolitijaza	5,1
Hronični pijelonefritis	3,8
Vezikoureteralni refluks	2,5
Endemska nefropatija	2,5
pANCA vaskulitis	1,3
Nepoznata etiologija	2,6
Ostalo	12,4
<b>Raspodjela pacijenata prema osnovnoj bolesti; broj (%)</b>	
KVB rizik	34 (43,2%)
Ostalo	43 (54,4%)
Nema podataka	2 (2,6%)
<b>Raspodjela pacijenata prema ishodu; broj (%)</b>	
Umrli	28 (35,4%)
Umrli KVB	11 (13,9%)
Živi	51 (64,6%)



*Slika 9. Raspodjela pacijenata prema starosti*



*Slika 10. Raspodjela pacijenata prema broju dana na HD tretmanu*

U tabeli 6 prikazana je deskriptivna statistika svih izmjerenih parametara. Mjerali smo antropometrijske parametre: BMI, debljinu kožnog nabora, opseg struka, opseg kuka i MIS score; zatim sistolni i dijastolni pritisak prije i nakon dijalize; parametre lipidnog statusa kao tradicionalne faktore rizika za razvoj KVB (TC, trig, HDL-C, LDL-C,

ApoAI, ApoB) i uz njih i Hcy; nutritivne markere (albumin, prealbumin, RBP, transferin, IGF-1, IGFBP-3 i BuChE) ; markere inflamacije (hsCRP, IL-6, adipokin – rezistin); biomarkere oksidativnog stresa (TAS, TOS, SOD u eritrocitima, MDA, MPO, PAB), kreatinin prije, uric nakon HD tretmana i hsTnI.

U tabeli 7 Student-ovim t-testom za nezavisne uzorke testirali smo eventualnu razliku između obrađivanih markera kod dvije grupe pacijenata podijeljenih na osnovu osnovne bolesti (Ostalo i KVB rizik). BMI, opseg struka i opseg kuka statistički značajno su bili viši kod pacijenata u grupi KVB rizik ( $p < 0,05$ ). Sistolni pritisak prije i nakon HD tretmana takođe je statistički bio značajno viši u istoj grupi pacijenata, ali kako je u toj grupi najviše pacijenata čija je osnovna bolest koja je dovela do HRI arterijska hipertenzija, takav rezultat je bio očekivan. Dijastolni pritisak poslije HD tretmana, URR i uric statistički se značajno razlikuju između grupa, ali na nivou značajnosti 90% ( $p < 0,1$ ). URR je niža kod pacijenata u grupi KVB rizik, a uric je u toj grupi visočija. Nema statistički značajne razlike između ostalih ispitivanih markera. Slike 11-18 prikazuju boks plot dijagrame statistički značajnih parametara kod pacijenata na osnovu njihove osnovne bolesti.

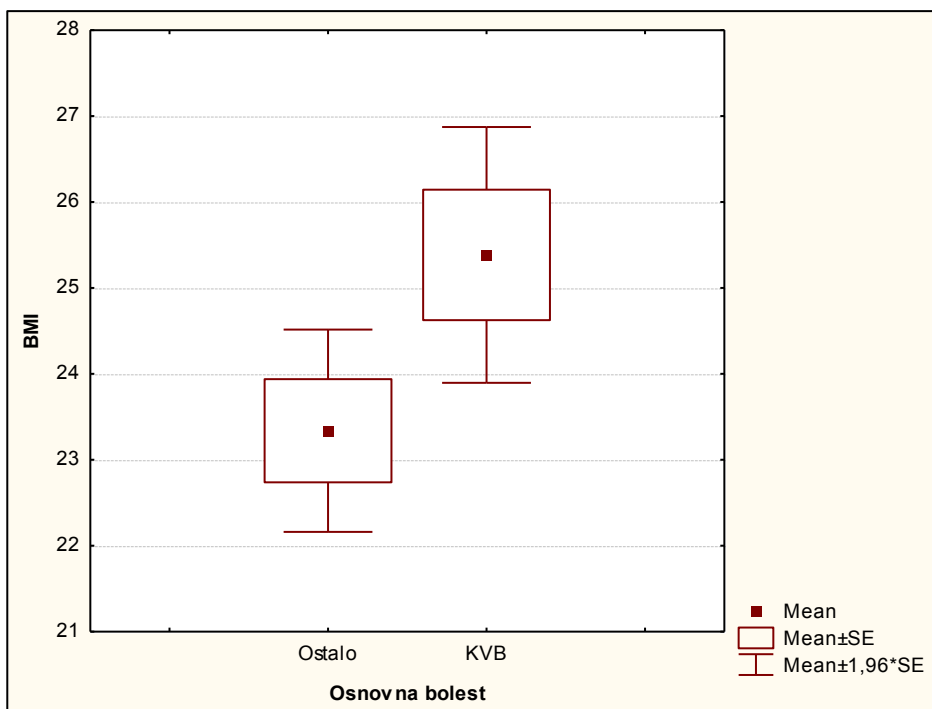
**Tabela 6. Deskriptivna statistika izmjerenih parametara**

<b>Parametar</b>	<b>Srednja vrijednost±SD Medijana (25-ti – 75-ti percentil)</b>
BMI, kg/m <sup>2</sup>	24,268±4,274
Kaliper, %	14,024±3,711
Opseg nadlaktice, cm	24,780±5,204
Opseg struka, cm	86,766±13,168
Opseg kuka, cm	91,488±14,704
MIS score	5,732±2,050
Sistolni KP prije HD, mmHg	143,961±22,114
Dijastolni KP prije HD, mmHg	76,948±10,038
Sistolni KP posle HD, mmHg	129,610±20,644
Dijastolni KP posle HD, mmHg	71,753±10,599
Transferin, g/L	2,070±0,448
RBP, g/L	0,139±0,039
Apo AI, g/L	1,310±0,237
Apo B, g/L	0,799±0,201
hcCRP, mg/L	8,384±19,784
Kreatinin prije HD, μmol/L	957,278±217,976
Uric poslije HD, μmol/L	135,631±40,139
Albumin, g/L	37,848±3,701
TC, mmol/L	4,123±0,894
Trig, mmol/L	1,584±0,902
HDL-C, mmol/L	0,911±0,341
LDL-C, mmol/L	2,493±0,687
MPO, pmol/L	181,603 (85,200-196,300)
SOD u eritrocitima, U/mL	144,549±51,421
SOD/Hgb, U/g Hgb	1496,847±573,467
TAS, mmol/L	2,158±0,287
hsTnI, ng/L	21,000(9,000-38,000)
Prealbumin, g/L	0,297±0,081
Rezistin, mg/L	0,731±0,326
PAB, HK jedinice	28,559±23,896
MDA, μmol/L	3,742±0,923
TOS, μmol/L	40,803±23,064
BuChE, U/L	6841,430±1958,128
Hcy, μmol/L	30,162±11,366
IGF-1, ng/mL	235,813±133,055
IGFBP-3, μg/mL	5,184±2,005
IL-6, pg/mL	11,730 (2,130-13,300)

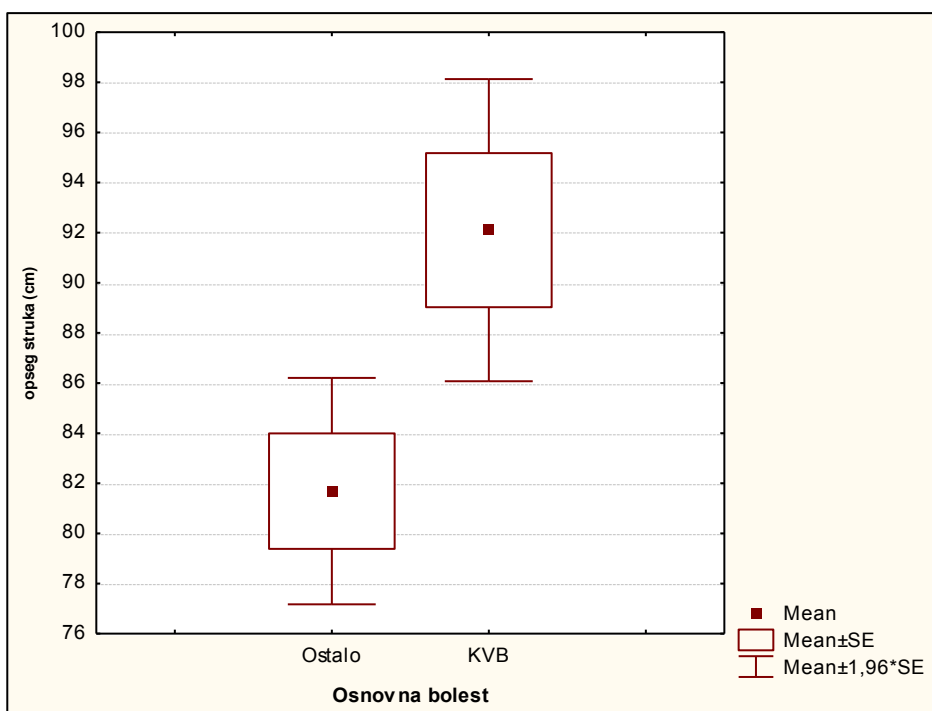


**Tabela 7. Testiranje statističke razlike između pacijenata sa osnovnom bolešću koja je rizik od KVB i pacijenata s ostalim bolestima (t-test)**

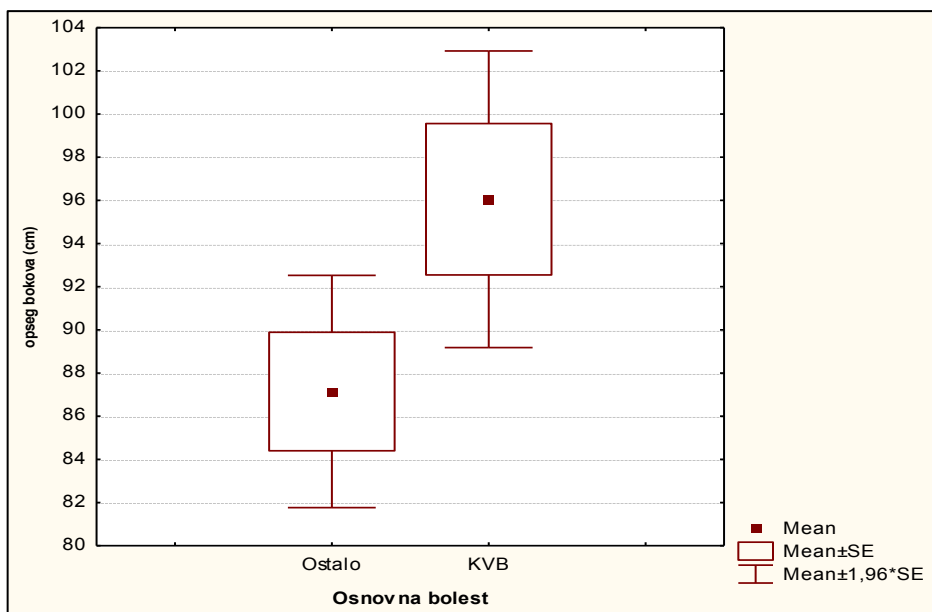
Parametar	Srednja vrijednost±SD Ostalo	Srednja vrijednost±SD KVB rizik	t- vrijednost	P
BMI, kg/m <sup>2</sup>	23,338±3,894	25,384±4,493	-2,141	<b>0,036</b>
Kaliper, %	13,381±3,626	14,700±3,771	-1,142	0,260
Opseg nadlaktice, cm	24,705±5,044	24,860±5,497	-0,094	0,925
Opseg struka, cm	81,686±10,561	92,100±13,753	-2,727	<b>0,010</b>
Opseg kuka, cm	87,143±12,579	96,050±15,679	-2,011	<b>0,050</b>
MIS score	5,810±2,316	5,650±1,785	0,246	0,807
Sistolni prije, mmHg	136,548±20,136	152,857±21,327	-3,445	<b>0,001</b>
Diastolni prije, mmHg	75,476±9,927	78,714±10,025	-1,419	0,160
Sistolni posle, mmHg	124,286±20,380	136,000±19,357	-2,569	<b>0,012</b>
Diastolni posle, mmHg	69,762±11,205	74,143±9,431	-1,834	<b>0,071</b>
kT/V	1,164±0,173	1,114±0,112	1,462	0,148
Transferin, g/L	2,062±0,476	2,039±0,392	0,231	0,818
RBP, g/L	0,140±0,038	0,140±0,041	-0,009	0,992
Apo AI, g/L	1,320±0,222	1,308±0,256	0,220	0,826
Apo B, g/L	0,796±0,204	0,790±0,191	0,135	0,893
hcCRP, mg/L	10,306±26,647	6,081±6,329	0,915	0,363
URR, %	61,861±11,075	57,956±9,206	1,654	<b>0,100</b>
Kreatinin prije HD, µmol/L	982,714±209,074	923,343±232,050	1,180	0,242
Uric poslije HD, µmol/L	127,129±41,188	142,700±36,595	-1,728	<b>0,088</b>
Albumin, g/L	37,643±3,477	38,029±4,018	-0,452	0,653
TC, mmol/L	4,117±0,957	4,126±0,852	-0,041	0,967
Trig, mmol/L	1,521±0,637	1,672±1,159	-0,725	0,471
HDL-C, mmol/L	0,912±0,329	0,922±0,358	-0,125	0,901
LDL-C, mmol/L	2,517±0,744	2,437±0,633	0,490	0,626
SOD u eritrocitima, U/mL	138,274±51,915	149,547±51,424	-0,948	0,346
SOD/Hgb, U/g Hgb	1455,663±602,071	1519,163±543,421	-0,479	0,633
TAS, mmol/L	2,200±0,311	2,111±0,253	1,339	0,185
Prealbumin, g/L	0,294±0,069	0,298±0,093	-0,232	0,817
Rezistin, mg/L	0,729±0,384	0,730±0,256	-0,017	0,986
PAB, HK jedinice	29,915±27,915	25,635±16,972	0,654	0,516
MDA, µmol/L	3,669±0,882	3,855±0,986	-0,863	0,391
TOS, µmol/L	41,643±26,275	39,666±19,853	0,334	0,740
BuChE, U/L	6692,286±1874,654	7041,229±2070,235	-0,776	0,440
Hcy, µmol/L	30,027±11,719	29,526±11,333	0,143	0,887
IGF-1, ng/mL	255,264±133,006	224,146±121,179	1,043	0,300
IGFBP-3, µg/mL	5,348±1,791	4,983±2,284	0,785	0,435



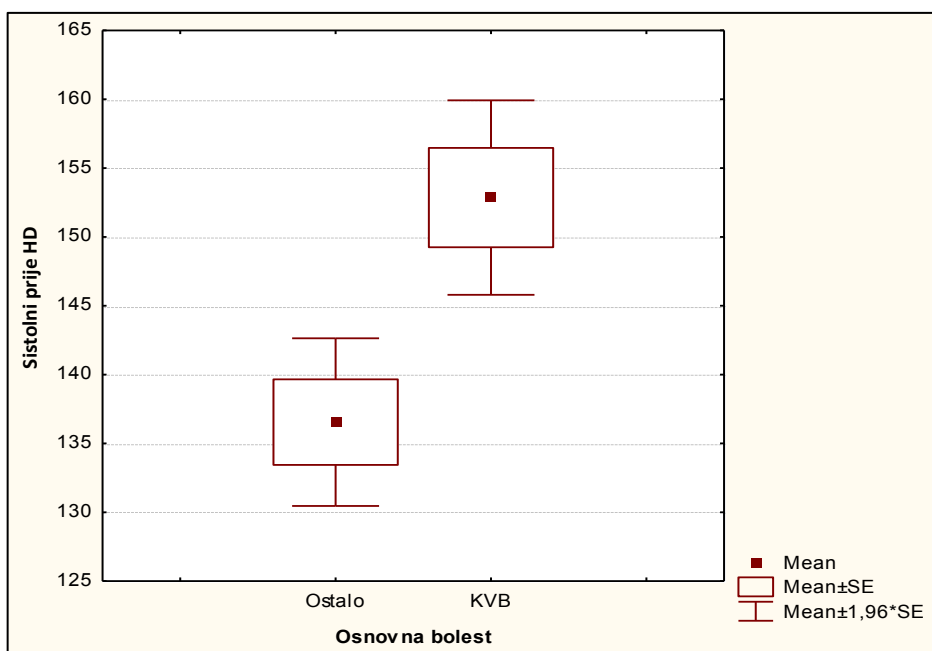
*Slika 11. Boks plot dijagram BMI po grupama pacijenata*



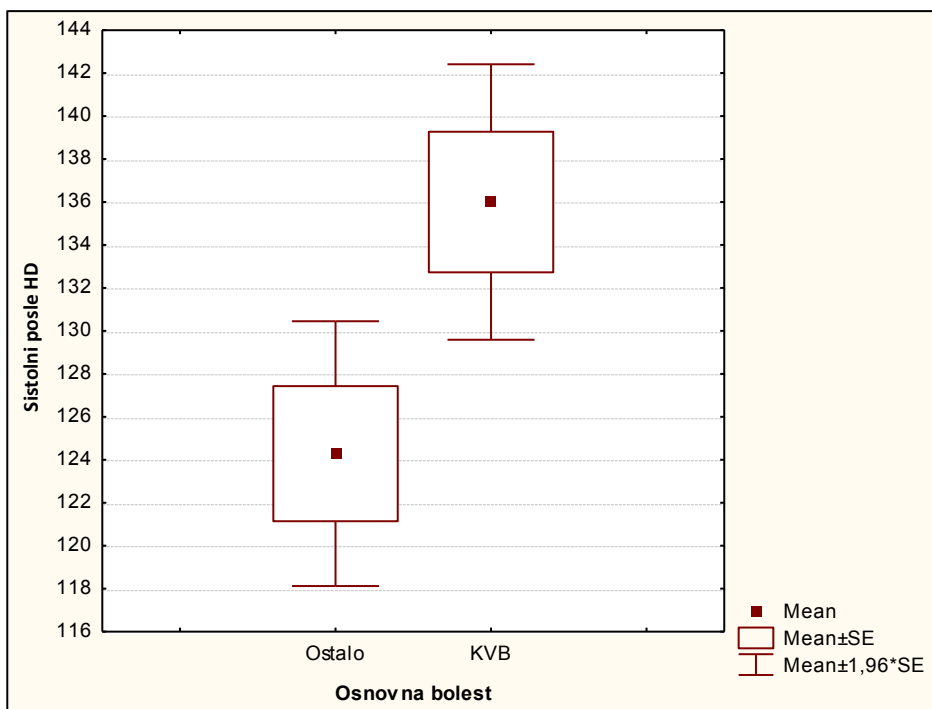
*Slika 12. Boks plot dijagram opsega struka po grupama pacijenata*



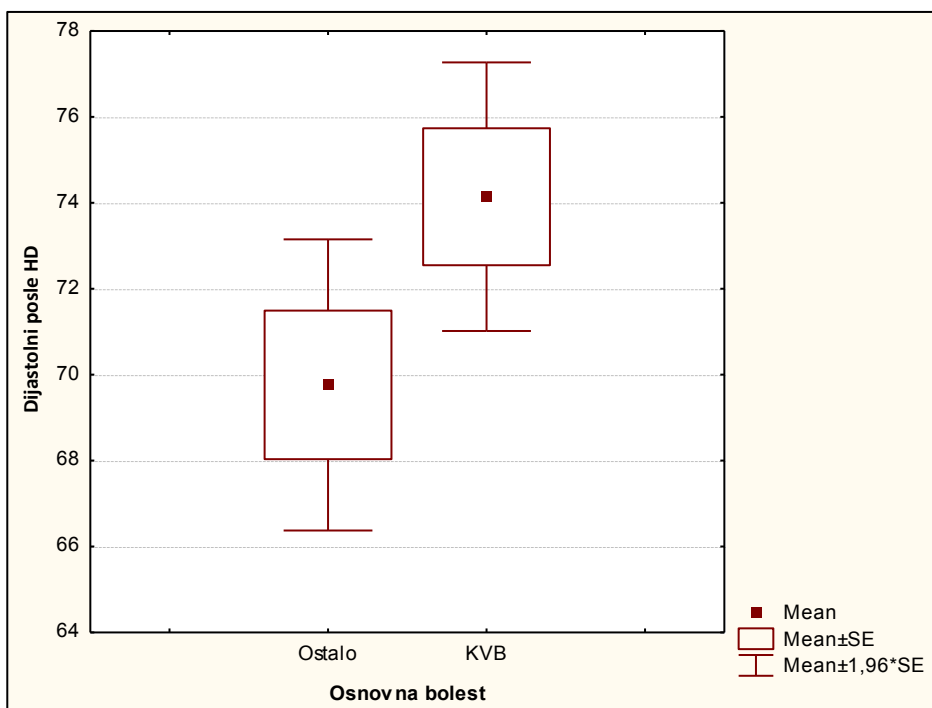
**Slika 13. Boks plot dijagram opsega kuka po grupama pacijenata**



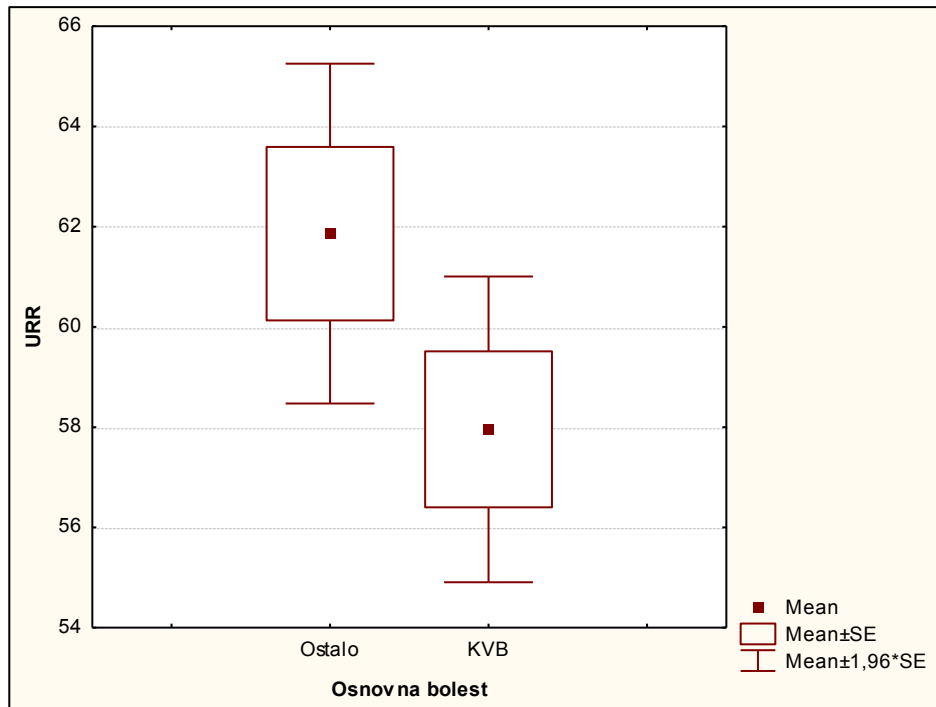
**Slika 14. Boks plot dijagram sistolnog KP prije HD tretmana po grupama pacijenata**



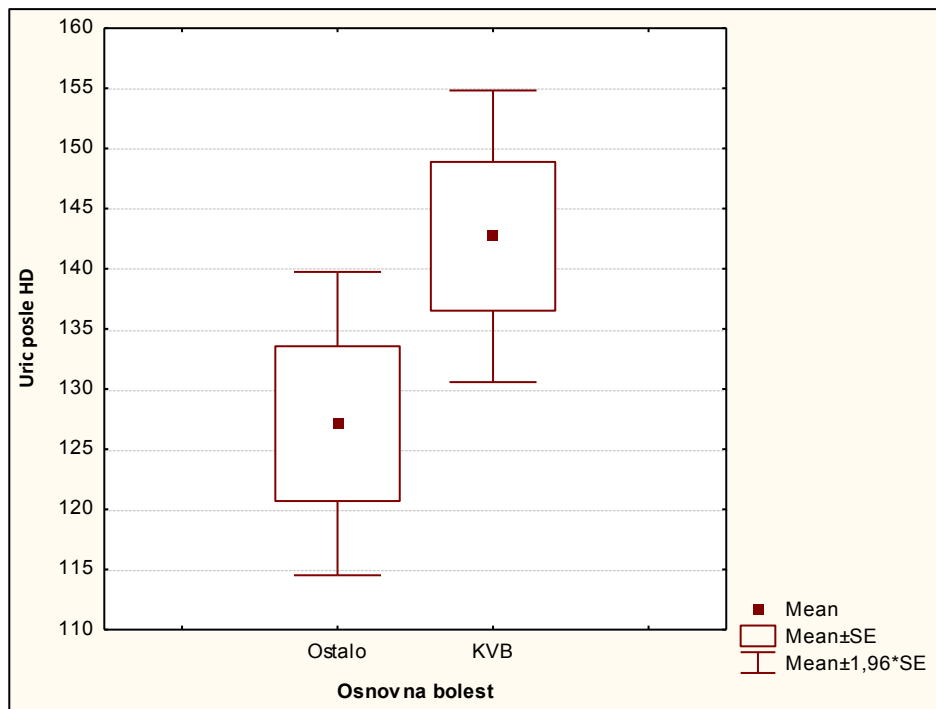
**Slika 15. Boks plot dijagram sistolnog KP poslije HD tretmana po grupama pacijenata**



**Slika 16. Boks plot dijagram dijastolnog KP poslije HD tretmana po grupama pacijenata**



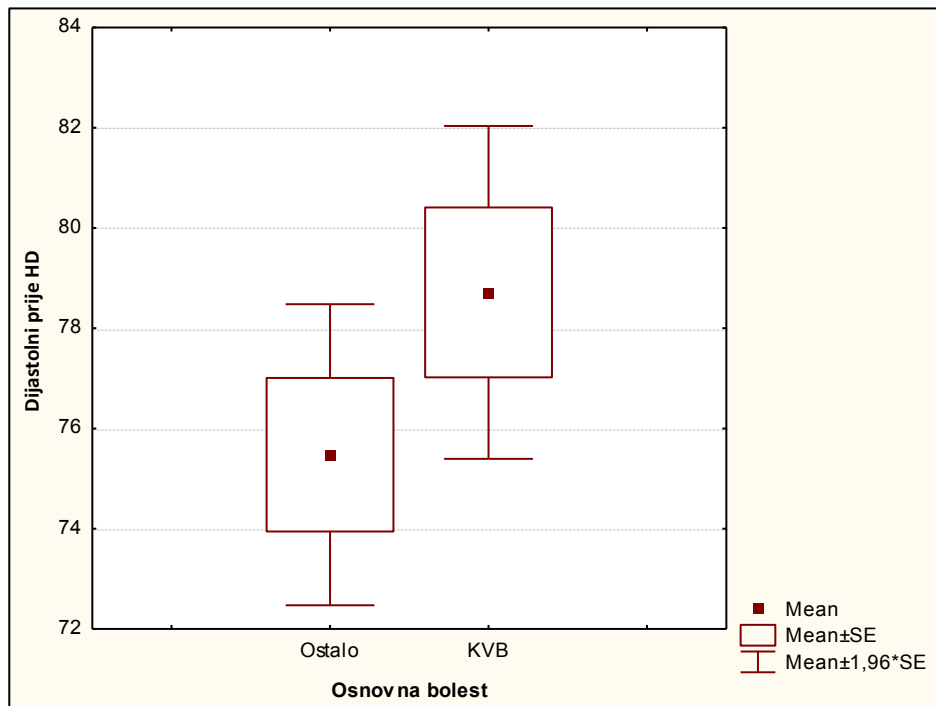
**Slika 17. Boks plot dijagram URR po grupama pacijenata**



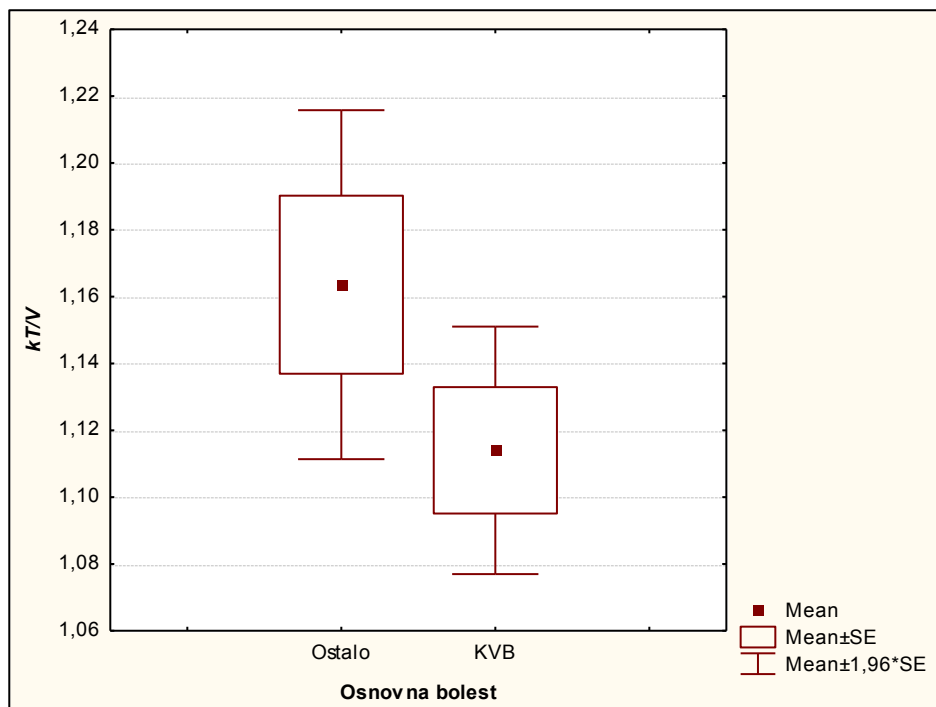
**Slika 18. Box plot dijagram mokraćne kiseline nakon HD tretmana po grupama pacijenata**

Dijastolni pritisak prije HD tretmana, kT/V, kreatinin prije hemodijalize i TAS nisu pokazali statistički značajnu razliku između grupa, ali se na boks plot dijagramima uočava razlika u izmjerenim parametrima (slike 19-22). Dijastolni KP prije HD

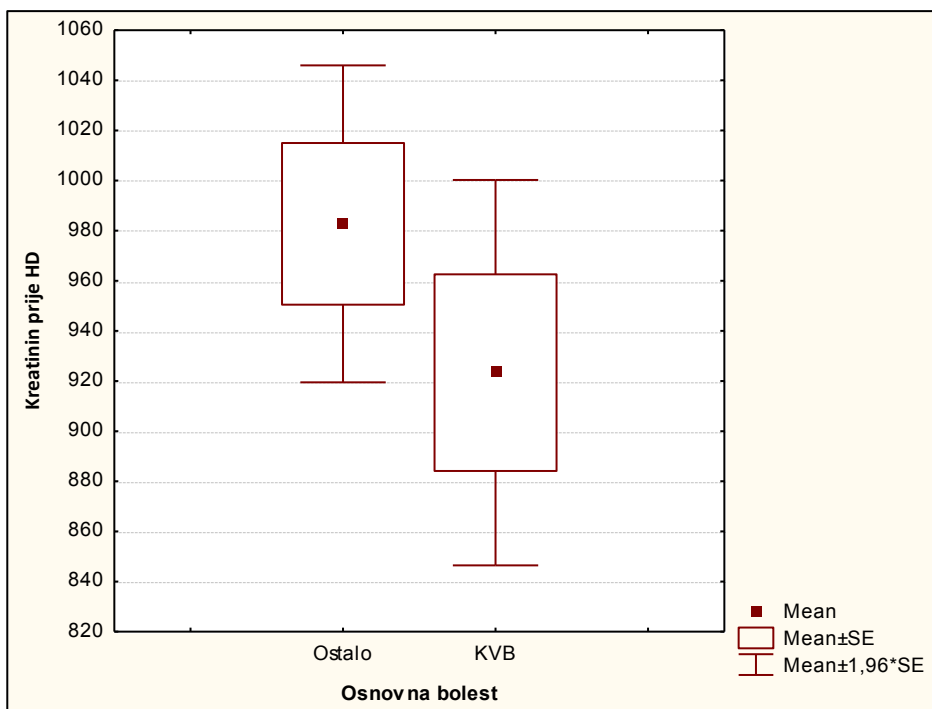
tretmana je na dijagramu viši kod pacijenata u grupi KVB rizik a kT/V, kreatinin prije HD i TAS su niži u toj grupi pacijenata.



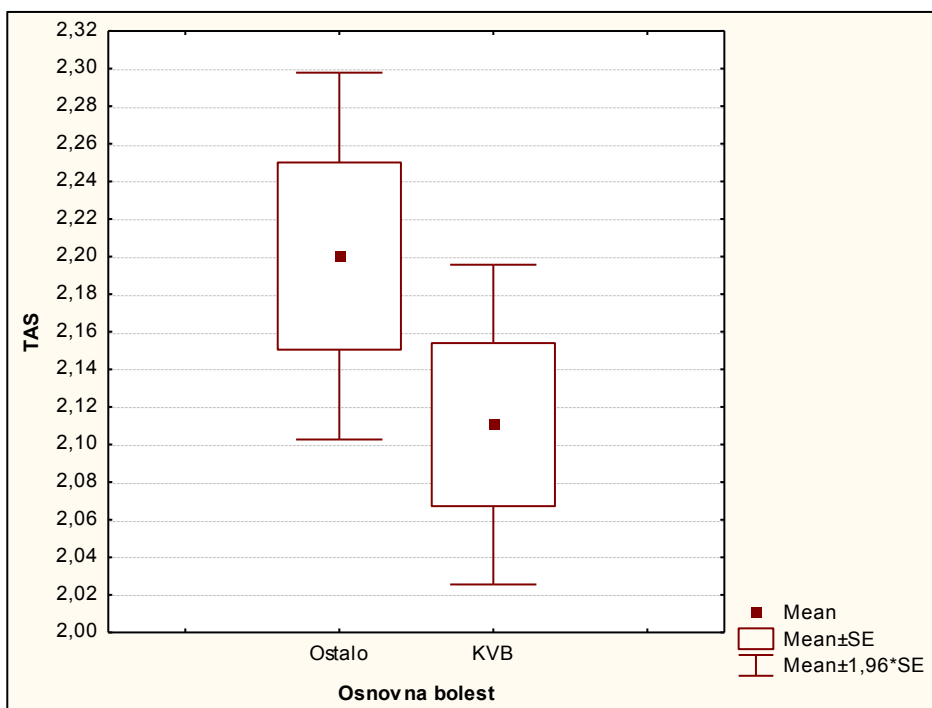
**Slika 19. Boks plot dijagram dijastolnog pritiska prije HD tretmana po grupama pacijenata**



**Slika 20. Boks plot dijagram kT/V vrijednosti po grupama pacijenata**



*Slika 21. Boks plot dijagram koncentracije kreatinina prije dijalize po grupama pacijenata*



*Slika 22. Boks plot dijagram nivoa TAS po grupama pacijenata*

**Tabela 8. Testiranje statističke razlike između pacijenata sa osnovnom bolešću koja je rizik od KVB i pacijenata s ostalim bolestima (Mann-Whitney U test)**

	Ostalo Medijana (25-ti – 75-ti percentil)	KVB rizik Medijana (25-ti – 75-ti percentil)	Mann- Whitne y U	Z	p
MPO, pmol/L	118,250 (85,425- 184,325)	112,900 (85,650- 231,650)	416,500	-0,380	0,704
hsTnI, ng/L	20,000 (8,000-30,000)	32,000 (9,500-54,000)	585,000	-1,348	0,178
IL-6, pg/mL	4,130 (2,097-21,150)	6,230 (2,000-10,950)	681,000	0,552	0,581

Kod pacijenata grupisanih u KVB rizik skupinu testirali smo razliku laboratorijskih parametara u odnosu na priznate, tradicionalne faktore rizika za razvoj KVB: pol i pušenje (tabele 9, 10,11 i 12).

**Tabela 9. Testiranje statističke povezanosti laboratorijskih parametara sa polom kao priznatim faktorom rizika za KVB kod pacijenata sa osnovnom bolešću koja je rizik od KVB (Student t-test)**

Lab. parametri	Srednja vrijednost±SD Muškarci (n=22)	Srednja vrijednost±SD Žene (n=13)	t-vrijednost	p
Transferin, g/L	1,990±0,394	2,120±0,392	-0,942	0,353
RBP, g/L	0,138±0,042	0,142±0,042	-0,264	0,793
Uric poslije HD, μmol/L	148,491±34,132	132,900±39,877	1,227	0,229
Albumin, g/L	38,545±4,339	37,154±3,387	0,990	0,330
SOD u eritrocitima, U/mL	155,372±56,223	139,688±42,348	0,869	0,391
TAS, mmol/L	2,097±0,212	2,133±0,317	-0,403	0,690
hsTnI, ng/L	57,048±105,330	27,692±19,712	0,989	0,330
Prealbumin, g/L	0,304±0,085	0,289±0,109	0,460	0,648
Rezistin, mg/L	0,728±0,254	0,734±0,270	-0,069	0,945
PAB, HK jedinice	49,297±47,626	58,184±62,336	-0,470	0,642
TOS, μmol/L	42,740±19,623	32,833±19,719	1,256	0,220
BuChE, U/L	6773,82±2045,95	7493,77±2113,06	-0,994	0,327
IGF-1, ng/mL	203,014±108,994	259,908±151,109	-1,291	0,206
IGFBP-3, μg/mL	4,050±1,378	6,564±2,675	-3,682	<b>0,001</b>

**Tabela 10. Testiranje statističke povezanosti laboratorijskih parametara sa polom kao priznatim faktorom rizika za KVB kod pacijenata sa osnovnom bolešću koja je rizik od KVB – (Mann-Whitney U test)**

	Rank Sum z	Rank Sum m	U	Z adjusted	p- level	Z	p- level	2*1sided exact p
MPO, pmol/L	142,000	209,000	56,000	1,105	0,269	1,105	0,269	0,287
IL-6, pg/mL	246,000	384,000	131,000	0,410	0,682	0,411	0,681	0,699



T-test za nezavisne uzorke i Mann-Whitney U Test pokazuju da su vrijednosti IGFBP3 statistički značajno više kod žena nego kod muškaraca. Ostali laboratorijski parametri nisu statistički značajno povezani s polom.

**Tabela 11. Testiranje statističke povezanosti laboratorijskih parametara sa pušenjem kao priznatim faktorom rizika za KVB kod pacijenata sa osnovnom bolešću koja je rizik od KVB (Student t-test)**

Lab parametri	Srednja vrijednost±SD Da (n=14)	Srednja vrijednost±SD Ne (n=21)	t-vrijednost	p
Transferin, g/L	2,036±0,507	2,040±0,307	-0,035	0,973
RBP, g/L	0,143±0,050	0,138±0,035	0,352	0,727
Uric posle HD, μmol/L	137,907±34,605	145,895±38,360	-0,627	0,535
Albumin, g/L	37,929±5,015	38,095±3,330	-0,118	0,906
SOD u eritrocitima, U/mL	139,356±46,228	156,341±54,639	-0,956	0,346
TAS, mmol/L	2,147±0,308	2,088±0,218	0,653	0,518
hsTnI, ng/L	25,077±19,002	58,667±104,900	-1,137	0,264
Prealbumin, g/L	0,296±0,106	0,300±0,087	-0,101	0,920
Rezistin, mg/L	0,772±0,307	0,702±0,219	0,793	0,433
PAB, HK jedinice	61,429±57,526	46,580±50,153	0,800	0,430
TOS, μmol/L	35,790±22,271	41,705±18,772	-0,757	0,456
BuChE, U/L	6957,50±1858,73	7097,05±2242,70	-0,193	0,848
IGF-1, ng/mL	236,771±165,307	215,729±97,716	0,474	0,639
IGFBP-3, μg/mL	5,543±3,166	4,610±1,411	1,190	0,242

**Tabela 12. Testiranje statističke povezanosti laboratorijskih parametara sa pušenjem kao priznatim faktorom rizika za KVB kod pacijenata sa osnovnom bolešću koja je rizik od KVB – (Mann-Whitney U test)**

	Rank Sum da	Rank Sum ne	U	Z	p-level	Z adjust ed	p-level	2*1sided exact p
MPO, pmol/L	90,000	261,000	45,000	-1,698	<b>0,090</b>	-1,698	0,090	0,095
IL-6, pg/mL	268,500	361,500	130,500	0,556	0,578	0,558	0,577	0,583

T-test za nezavisne uzorke i Mann-Whitney U Test pokazuju da laboratorijski parametri nisu statistički značajno povezani s pušenjem na nivou značajnosti 95% ( $p > 0,05$ ), a vrijednosti MPO su statistički značajno više kod nepušača nego kod pušača na nivou značajnosti od 90% ( $p < 0,10$ ).

**Tabela 13. Korelacija između svih promatranih laboratorijskih parametara sa svim priznatim faktorima rizika za KVB (lipidni status sa homocisteinom, BMI)**

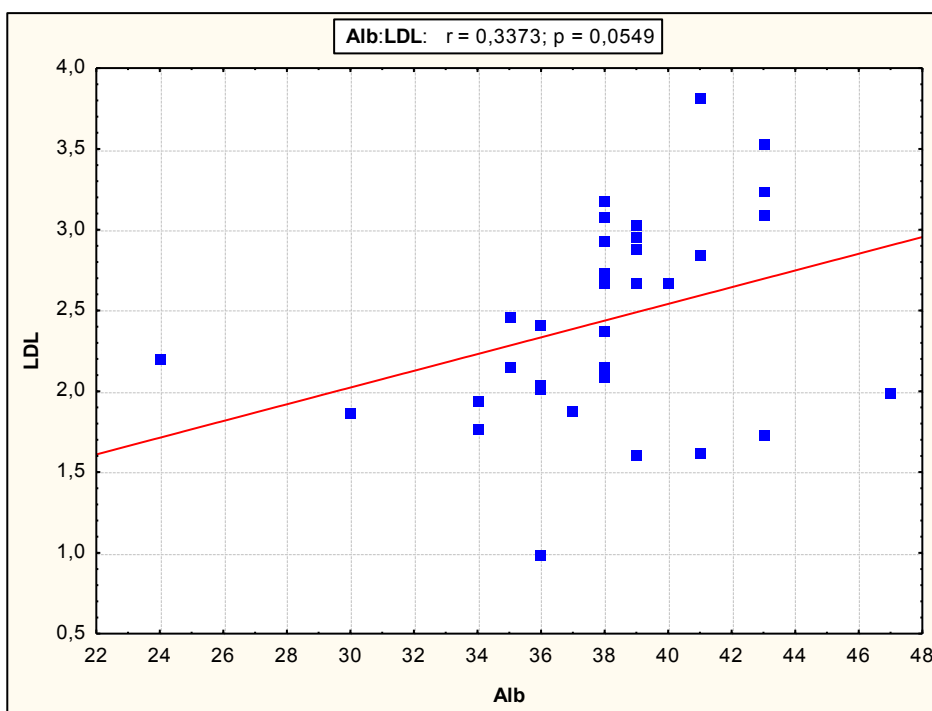
	TC	Trig	HDL-C	LDL-C	Apo AI	Apo B	Hcy	BMI	hsTnI
TAS, mmol/L	0,468	0,089	-0,261	0,669	-0,127	0,540	0,238	0,701	0,262
TOS, $\mu$ mol/L	0,533	0,601	-0,518	0,414	-0,239	0,723	<b>0,848</b>	-0,102	0,037
PAB, HK jedinice	-0,656	-0,298	0,130	-0,547	-0,410	-0,612	-0,512	-0,336	-0,295
SOD, U/mL	-0,183	-0,124	0,278	-0,420	0,721	-0,368	0,061	-0,350	0,283
Uric posle, $\mu$ mol/L	<b>0,809</b>	0,115	-0,091	<b>0,855</b>	-0,163	0,475	0,501	0,338	0,168
BuChE, U/L	0,028	0,617	-0,391	-0,099	0,106	0,555	0,147	0,275	-0,296
hcCRP, mg/L	<b>-0,810</b>	-0,203	0,172	<b>-0,764</b>	0,096	-0,585	-0,743	0,071	-0,306
IL-6, pg/mL	<b>-0,909</b>	-0,309	0,186	<b>-0,842</b>	-0,046	-0,719	-0,716	-0,191	-0,253
Rezistin, mg/L	0,007	0,029	0,066	-0,105	0,273	0,232	-0,004	-0,507	0,127
Albumin, g/L	<b>0,780</b>	0,143	-0,238	<b>0,953</b>	-0,420	0,659	0,413	0,469	0,118
Prealbumin, g/L	0,576	0,447	-0,651	<b>0,755</b>	-0,416	<b>0,803</b>	0,686	<b>0,758</b>	0,201
RBP, g/L	0,493	0,571	-0,592	0,585	-0,662	<b>0,770</b>	0,504	0,408	-0,259
IGF-1, ng/mL	0,421	-0,360	-0,118	<b>0,772</b>	-0,288	0,362	0,227	0,273	0,673
IGFBP-3, $\mu$ g/mL	0,614	0,165	-0,159	0,660	0,098	0,708	0,333	0,267	0,287
Transferin, g/L	-0,686	-0,337	-0,116	-0,574	0,073	-0,496	0,055	-0,312	0,559
MPO, pmol/L	0,301	<b>0,996</b>	-0,197	-0,185	0,247	0,802	0,689	0,099	<b>0,764</b>
MDA, $\mu$ mol/L	-0,085	0,316	-0,914	-0,184	0,356	0,010	<b>0,515</b>	-0,108	0,293

U tabelama 13 i 14 su Pearsonovi koeficijent korelacije dobijeni u multivarijantnoj linearnoj regresiji u kojoj je analizirana povezanost svih posmatranih laboratorijskih parametara sa svim priznatim faktorima rizika za KVB. Crvenom bojom su označeni statistički značajni koeficijenti korelacije ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 14. Korelacija između svih promatranih laboratorijskih parametara sa svim priznatim faktorima rizika za KVB (sistolni pritisak, starost, antropometrijski parametri)**

	Sistolni prije	Sistolni posle	Starost	Kaliper	Opseg nadlaktice	Opseg struka	Opseg kuka	MIS score
TAS, mmol/L	-0,202	0,594	0,743	0,209	0,270	0,465	0,445	0,248
TOS, $\mu\text{mol/L}$	-0,401	0,072	-0,161	0,379	0,270	-0,372	-0,326	-0,451
PAB, HK jedinice	0,346	-0,348	-0,554	-0,326	-0,096	0,195	0,207	0,205
SOD, U/mL	0,022	-0,442	-0,249	-0,049	-0,413	-0,522	-0,544	-0,221
Uric posle, $\mu\text{mol/L}$	<b>-0,827</b>	0,184	0,567	0,088	-0,120	0,008	-0,039	0,127
BuChE, U/L	0,551	0,626	0,176	0,573	0,739	0,018	0,096	-0,206
hcCRP, mg/L	<b>0,863</b>	0,106	-0,105	-0,043	0,189	0,362	0,381	0,360
IL-6, pg/mL	<b>0,773</b>	-0,180	-0,430	-0,210	0,029	0,267	0,286	0,255
Rezistin, mg/L	0,193	-0,201	-0,475	-0,153	0,006	-0,426	-0,378	<b>-0,821</b>
Albumin, g/L	-0,654	0,403	0,604	0,093	0,127	0,268	0,243	0,112
Prealbumin, g/L	-0,313	0,674	0,649	0,501	0,500	0,428	0,434	0,265
RBP, g/L	-0,213	0,564	0,297	0,433	0,600	0,257	0,301	0,063
IGF-1, ng/mL	-0,493	0,049	0,278	-0,314	-0,187	0,377	0,334	-0,056
IGFBP-3, $\mu\text{g/mL}$	-0,262	0,370	0,414	0,116	0,179	0,002	0,007	-0,350
Transferin, g/L	0,306	-0,541	-0,669	-0,212	-0,271	0,009	0,007	-0,055
MPO, pmol/L	-0,808	-0,610	0,689	-0,927	-0,744	-0,411	-0,413	<b>0,988</b>
MDA, $\mu\text{mol/L}$	-0,276	0,027	-0,054	-0,013	-0,347	-0,253	-0,223	-0,033

U univarijantnoj linearnoj regresiji, u kojoj se analizirala povezanost jednog laboratorijskog parametra sa jednim rizikom za KVB, koeficijenti korelacije nisu statistički značajni, osim u slučaju albumina i LDL-holesterola (Slika 23).



**Slika 23. Korelacija između albumina i LDL-holesterola.**

Razlog tome što univarijatna analiza nije dala statistički značajne koeficijente korelacije je mali broj pacijenata sa KVB (34 pacijenta).

Da bi testirali eventualnu statistički značajnu razliku biohemijskih laboratorijskih parametara i BMI između preživjelih i umrlih pacijenata, kao i preživjelih pacijenata i pacijenata umrlih usled neke od KVB, korisili smo Student-ov t-test i Mann-Whitney U test (tabela 15). Statistički značajna razlika utvrđena je između nutritivnih parametara RBP i prealbumina za opšti i KVB mortalitet ( $p < 0,05$ ), dok se kod albumina i IGF-1 razlika dokazala samo između preživjelih i svih umrlih pacijenata ( $p < 0,05$ ). Biomarkeri inflamatornog statusa hsCRP i IL-6, kao i hsTnI su bili statistički značajno različiti kod opšteg i KVB mortaliteta ( $p < 0,05$ ). Od parametara oksidativnog statusa PAB se značajno razlikovao između preživjelih i umrlih pacijenata (opšti i KVB mortalitet), ( $p < 0,001$ ), kao i MPO ( $p < 0,05$ ). Mokraćna kiselina nakon dijalize se takođe statistički značajno razlikovala između živih i umrlih pacijenata (opšti i KVB mortalitet), ( $p < 0,05$ ). Homocistein je pokazao graničnu razliku ( $p = 0,056$ ) između živih pacijenata i pacijenata umrlih usled KVB.

**Tabela 15. Karakteristike pacijenata na osnovu opšteg i KVB mortaliteta**

Parametar	Preživjeli (n=51)	Opšti mortalitet (n=28)	p	KVB mortalitet (n=11)	p
BMI, kg/m <sup>2</sup>	23,07±3,56	24,06±3,88	0,706	24,82±2,86	0,767
Transferin, g/L	2,01±0,38	2,15±0,57	0,579	2,09±0,48	0,247
RBP, g/L	0,14±0,03	0,13±0,04	<b>0,011</b>	0,12±0,03	<b>0,030</b>
ApoAI, g/L	1,38±0,23	1,25±0,22	0,149	1,23±0,19	0,130
ApoB, g/L	0,79±0,17	0,81±0,20	0,578	0,83±0,17	0,607
hsCRP, mg/L	3,20±2,60	16,58±31,39	<b>&lt;0,001</b>	11,78±6,21	<b>0,05</b>
Kreatinin, μmol/L	1038,8±197,8	892,1±201,4	<b>0,004</b>	960,4±198,5	0,653
Uric posle, μmol/L	127,87±39,68	151,87±39,41	<b>0,018</b>	159,66±40,36	<b>0,013</b>
Albumin, g/L	38,43±2,35	36,50±4,84	<b>0,015</b>	37,64±2,33	0,278
TC, mmol/L	4,21±0,82	3,84±0,82	0,079	3,84±0,59	0,130
Trig, mmol/L	1,43±0,61	1,60±0,74	0,329	1,37±0,40	0,495
HDL-C, mmol/L	0,92±0,31	0,82±0,31	0,195	0,77±0,24	0,101
LDL-C, mmol/L	2,63±0,67	2,24±0,56	<b>0,018</b>	2,32±0,47	0,202
SOD, U/mL	145,51±53,55	153,11±44,00	0,545	164,78±53,85	0,180
TAS, mmol/L	2,26±0,30	2,08±0,24	0,104	2,13±0,017	0,510
Prealbumin, g/L	0,33±0,06	0,24±0,08	<b>&lt;0,001</b>	0,24±0,07	<b>0,001</b>
Rezistin, mg/L	0,78±0,36	0,71±0,35	0,468	0,78±0,24	0,998
PAB, HK jedinice	17,28±13,37	44,96±26,49	<b>&lt;0,001</b>	42,17±20,37	<b>&lt;0,001</b>
MDA, μmol/L	4,09±0,79	3,78±0,78	0,786	3,71±0,66	0,969
TOS, μmol/L	44,51±24,43	45,33±21,24	0,296	48,28±24,46	0,262
BuChE, U/L	7342,3±1919,0	5971,6±1818,1	<b>0,004</b>	5987,2±2060,5	<b>0,04</b>
Hcy, μmol/L	33,47±8,70	32,34±13,65	0,778	37,16±12,56	<b>0,056</b>
IGF-1, ng/mL	253,63±138,75	183,59±111,77	<b>0,031</b>	210,78±116,97	0,229
IGFBP-3, μg/mL	5,36±1,69	4,70±1,99	0,150	4,55±1,29	0,154
MPO, pmol/L	100,7(74,8-180,9)	147,6(101,2-258,9)	<b>0,029</b>	183,4(114,7-390,1)	<b>0,021</b>
hsTnI, ng/L	12,0(7,0-26,0)	38,0(21,0-69,0)	<b>&lt;0,001</b>	40,0(17,5-229,8)	<b>0,036</b>
IL-6, pg/mL	2,43(2,00-5,17)	14,00(6,31-27,70)	<b>&lt;0,001</b>	12,65(4,37-26,85)	<b>0,011</b>

**Tabela 16. Testiranje uticaja laboratorijskih parametara oksidativnog, inflamatornog i nutritivnog statusa na predikciju opšteg mortaliteta**

Proportional hazard (Cox) regression						
Dependent Variable: <i>Mjeseci</i> , Censoring var.: <i>Ishod</i>						
Lab parametri	Beta	Standard	t-vrijednost	exponent	Wald	p
TAS, mmol/L	-1,258	0,771	-1,632	0,284	2,664	0,103
TOS, $\mu\text{mol/L}$	0,009	0,008	1,033	1,009	1,067	0,302
PAB, HK jedinice	0,034	0,007	4,857	1,035	25,021	<b>&lt;0,001</b>
SOD, U/mL	0,004	0,004	1,141	1,004	1,303	0,254
MPO, pmol/L	0,001	0,001	1,357	1,001	1,841	0,175
Uric pos, $\mu\text{mol/L}$	0,012	0,004	2,731	1,012	7,461	<b>0,006</b>
BuChE, U/L	-0,000	0,000	-3,090	1,000	9,547	<b>0,002</b>
hcCRP, mg/L	0,023	0,006	4,061	1,023	16,488	<b>&lt;0,001</b>
IL-6, pg/mL	0,025	0,005	4,563	1,025	20,820	<b>&lt;0,001</b>
Rezistin, mg/L	-0,232	0,634	-0,365	0,793	0,133	0,715
Albumin, g/L	-0,115	0,042	-2,727	0,891	7,434	<b>0,006</b>
Prealbumin, g/L	-11,930	2,557	-4,665	0,000	21,765	<b>&lt;0,001</b>
RBP, g/L	-13,904	5,679	-2,448	0,000	5,995	<b>0,014</b>
IGF-1, ng/mL	-0,005	0,002	-2,660	0,995	7,075	<b>0,008</b>
IGFBP-3, $\mu\text{g/mL}$	-0,160	0,101	-1,588	0,852	2,522	0,112
Transferin, g/L	0,704	0,440	1,601	2,021	2,562	0,109
BMI, $\text{kg/m}^2$	-0,019	0,044	-0,430	0,981	0,185	0,667
hsTnI, ng/L	0,008	0,002	4,221	1,008	17,816	<b>&lt;0,001</b>
MDA, $\mu\text{mol/L}$	0,060	0,198	0,301	1,062	0,091	0,763

*Proportional hazard (Cox) regression* pokazuje da laboratorijski parametri Uric posle HD, BuChE, hcCRP, IL-6, albumin, prealbumin, RBP, IGF-1, PAB i hsTnI imaju statistički značajan uticaj na opšti mortalitet ( $p < 0,05$ ).

Za analizu potencijalne sposobnosti za predikciju mortaliteta biohemijskih markera nutritivnog, inflamatornog, oksidativnog statusa i hsTnI koristili smo Kaplan-Meierove krive preživljavanja tako što smo svakom parametru odredili *cut-off* vrijednosti:

- *Cut-off* koncentracija mokraćne kiseline je bila 150  $\mu\text{mol/L}$ , što je donja referentna vrijednost u normalnoj populaciji. Koristili smo koncentraciju mokraćne kiseline nakon HD tretmana.
- *Cut-off* za BuChE je bila aktivnost enzima 6459 U/L, što je donja referentna vrijednost u normalnoj populaciji.
- *Cut-off* hsCRP je za opšti mortalitet bila koncentracija od 5 mg/L, što je referentna vrijednost za inflamaciju u našoj laboratoriji. Za KVB mortalitet *cut-off* vrijednošću se smatrala koncentracija hsCRP od 3 mg/L. Vodič Američke asocijacije za bolesti srca i Centara za kontrolu i prevenciju bolesti (American Heart Association and the Centres for Disease Control and Prevention (AHA/CDC)) naglašava da koncentracije CRP veće od 3 mg/L predstavljaju visok rizik za razvoj KVB [235].
- *Cut-off* vrijednost za IL-6 je referentni *cut-off* od 3,4 pg/mL.
- *Cut-off* vrijednost za albumin je bila koncentracija 38 g/L preporučena kao marker za PEG.

- *Cut-off* vrijednost za prealbumin je bila koncentracija 0,3 g/L preporučena kao marker za PEG.
- *Cut-off* vrijednosti za RBP, rezistin, MDA, MPO, TAS, PAB i TOS bile su srednje vrijednosti ovih biomarkera u našoj populaciji.
- *Cut-off* vrijednost za IGF-1 bila je gornja referentna koncentracija ovog markera u svim starosnim grupama ispitanika – 202 ng/mL.
- *Cut-off* vrijednost za hsTnI bio je opšti 99-ti percentil preporučen od strane proizvođača 26,2 ng/L.
- *Cut-off* vrijednost za transferin bila je 2 g/L. To je koncentracija koja se upotrebljava kao granica pothranjenosti u upitniku za određivanje MIS *scor*-a.
- *Cut-off* vrijednost za SOD u eritrocitima je bila aktivnost 164 U/mL, što je donja referentna vrijednost za normalnu populaciju.

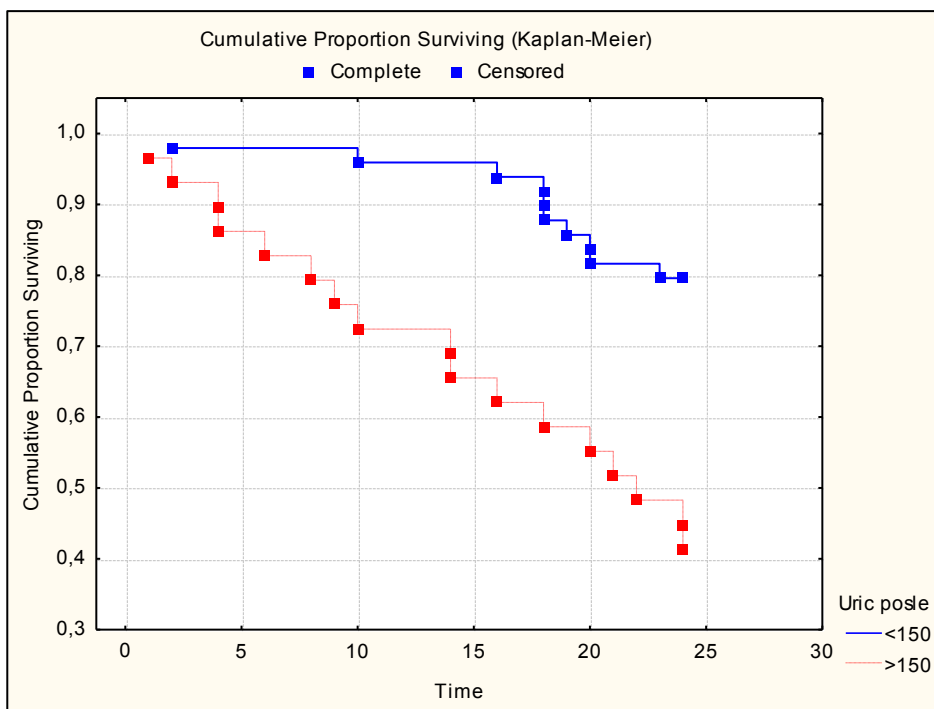
U tabeli 17 prikazan je log-rank test za *cut-off* vrijednosti biomarkera koje su se pokazale statistički značajnim u predikciji opšteg mortaliteta.

**Tabela 17. Log-Rank test za opšti mortalitet**

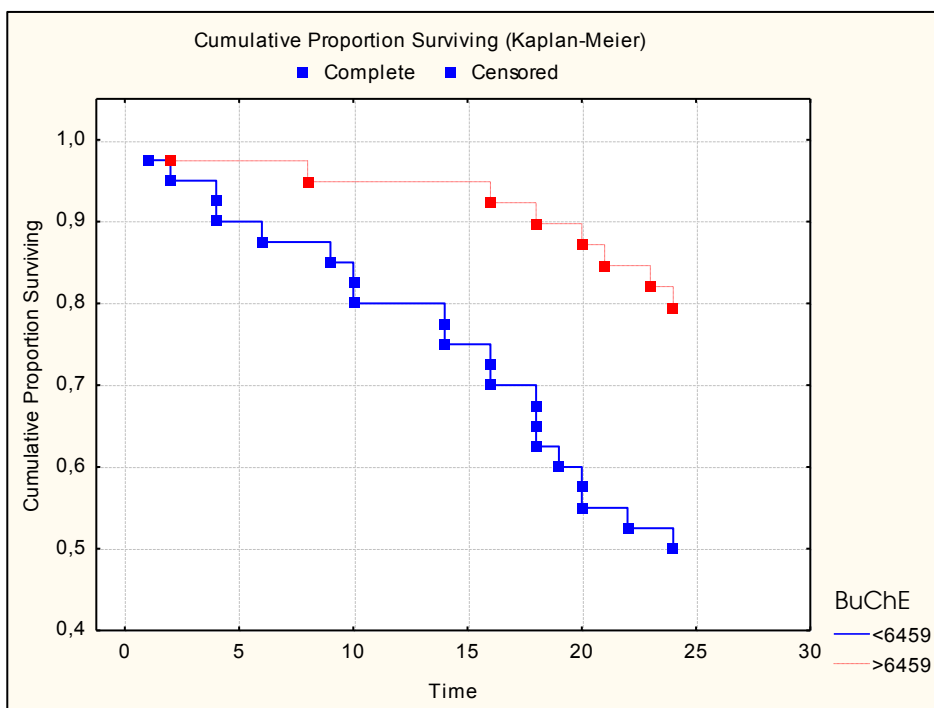
Log-Rank Test		
Lab parametri	Test statistics	P
Uric pos, $\mu\text{mol/L}$	-3,516	<b>0,0004</b>
BuChE, U/L	2,848	<b>0,004</b>
hcCRP, mg/L	3,919	<b>0,0001</b>
IL-6, pg/mL	3,938	<b>0,0001</b>
Albumin, g/L	-2,911	<b>0,004</b>
Prealbumin, g/L	-3,594	<b>0,0003</b>
RBP, g/L	-2,302	<b>0,021</b>
IGF-1, g/L	-2,359	<b>0,018</b>
hsTnI, ng/L	-3,663	<b>0,0003</b>
TOS, $\mu\text{mol/L}$	1,755	<b>0,079</b>
PAB, HK jedinice	2,315	<b>0,021</b>

Log-rank test pokazuje da postoji statistički značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti laboratorijskih parametara u odnosu na opšti mortalitet. Statistički značajnu razliku pokazali su: mokraćna kiselina posle HD tretmana, BuChE, hsCRP, IL-6, hsCRP, albumin, prealbumin, RBP, IGF-1, hsTnI i PAB ( $p < 0,05$ ), dok je za TOS statistička značajnost bila na nivou značajnosti od 90% ( $p < 0,10$ ).

Slike 24-33 prikazuju Kaplan-Meierove krive preživljavanja na osnovu *cut-off* vrijednosti ispitivanih parametara.

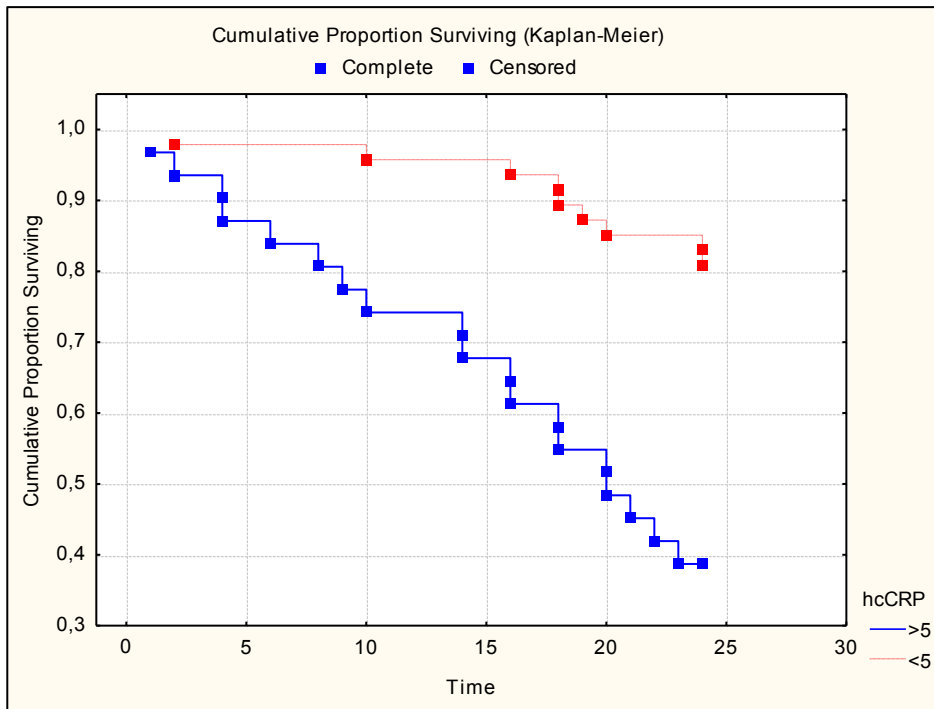


**Slika 24. Kaplan-Meierova kriva preživljavanja na osnovu cut-off koncentracija za mokraćnu kiselinu nakon dijalize**

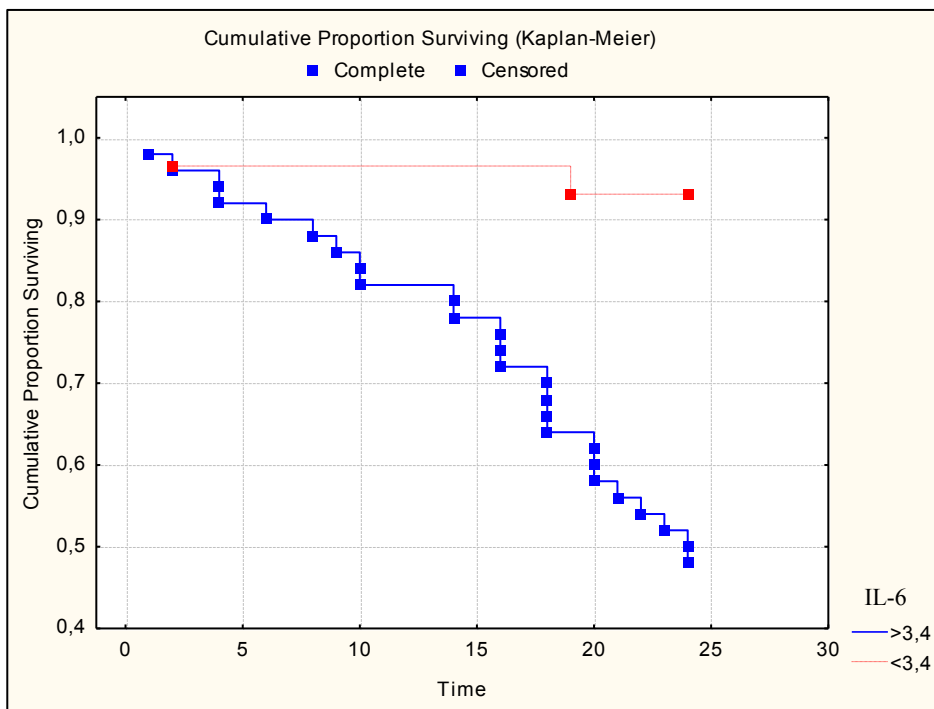


**Slika 25. Kaplan-Meierova kriva preživljavanja na osnovu cut-off aktivnosti BuChE**

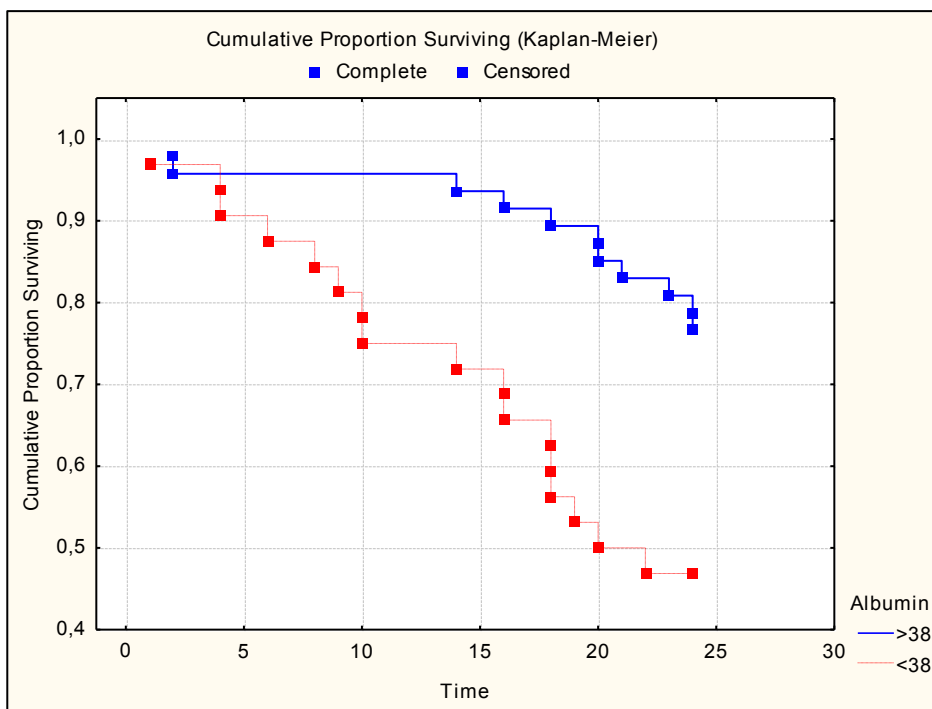




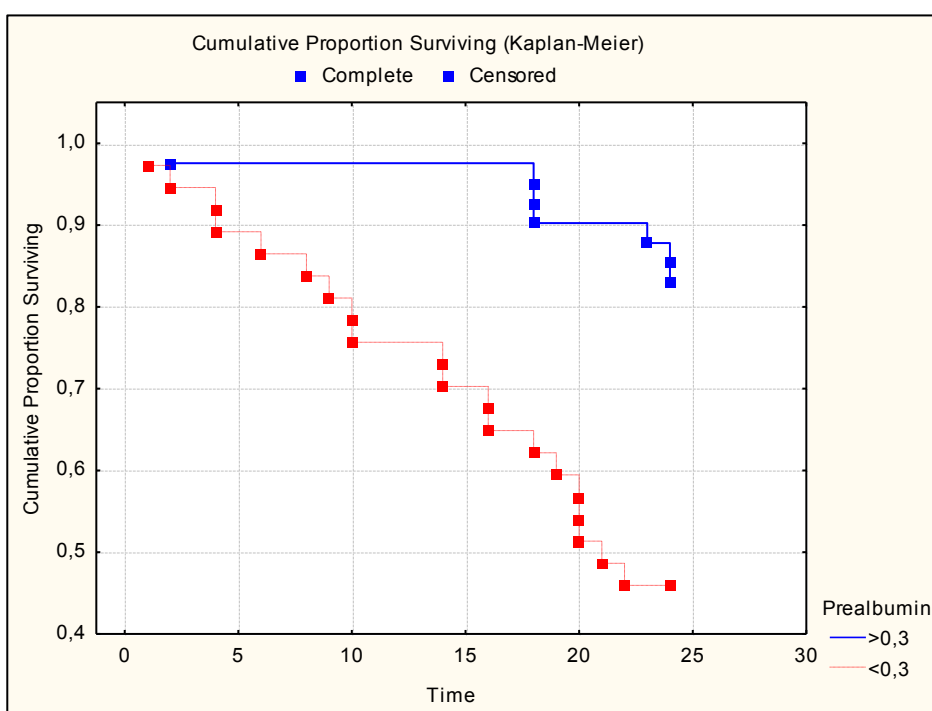
**Slika 26. Kaplan-Meierova kriva preživljavanja na osnovu cut-off za koncentraciju CRP (opšti mortalitet)**



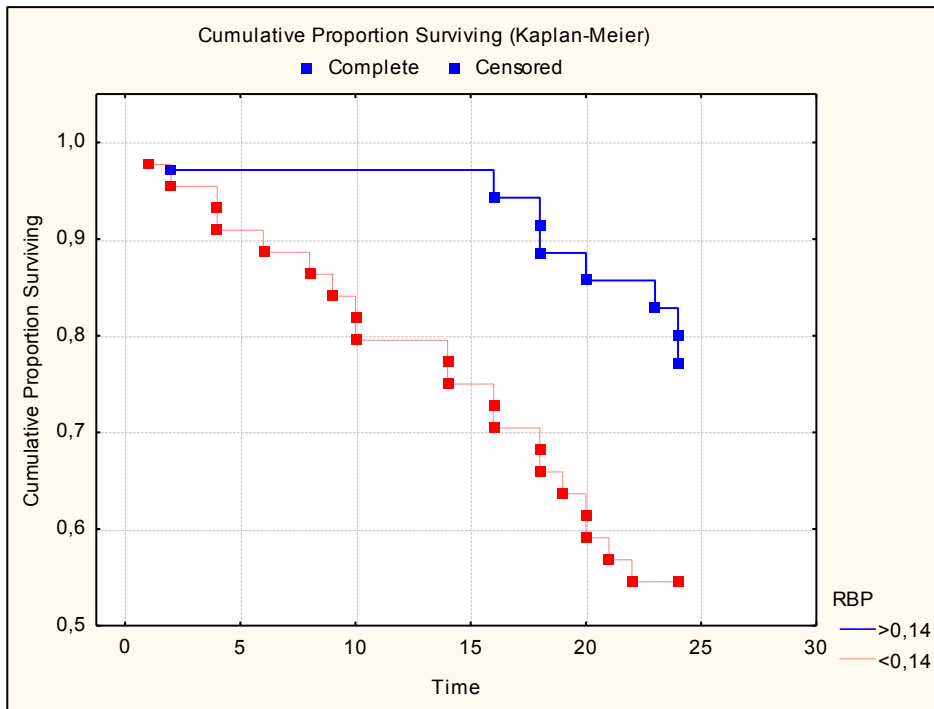
**Slika 27. Kaplan-Meierova kriva preživljavanja na osnovu cut-off koncentracija za IL6**



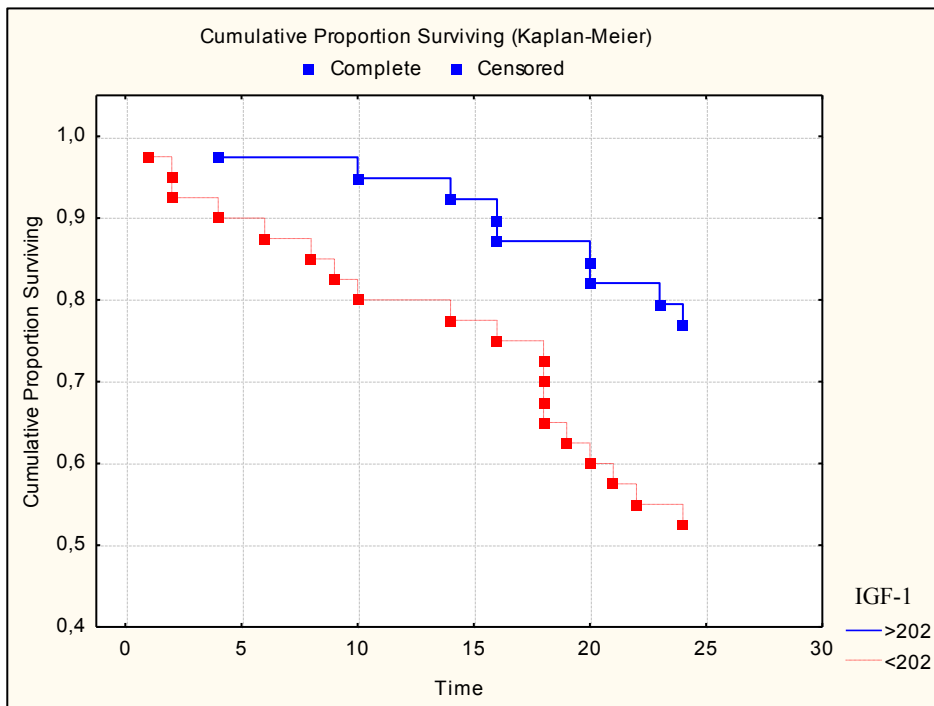
**Slika 28. Kaplan-Meierova kriva preživljanja na osnovu cut-off koncentracija za albumin**



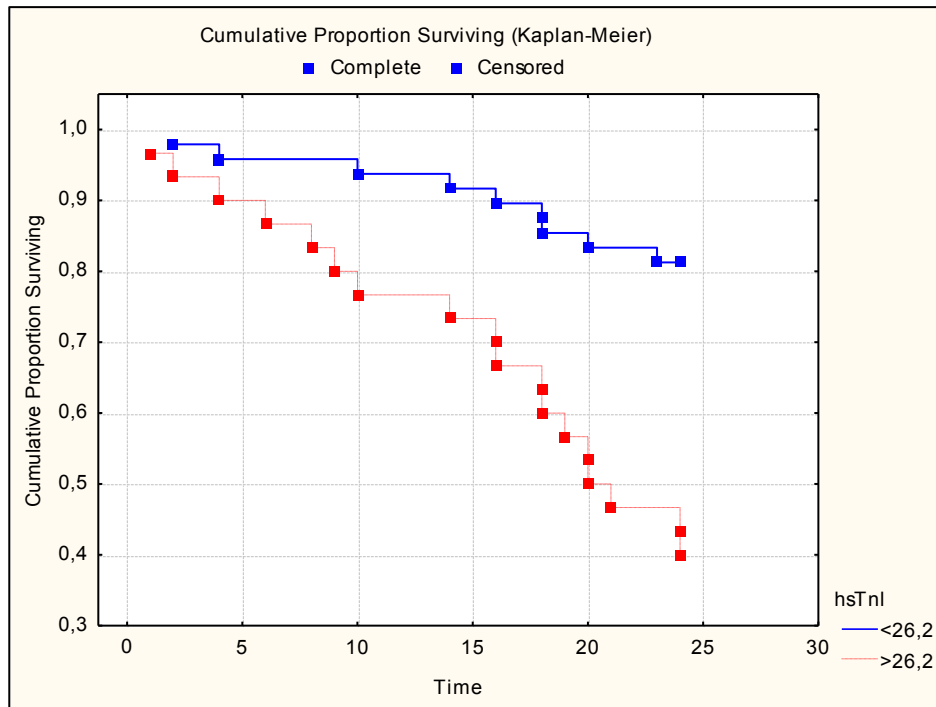
**Slika 29. Kaplan-Meierova kriva preživljanja na osnovu cut-off nivoa prealbumina**



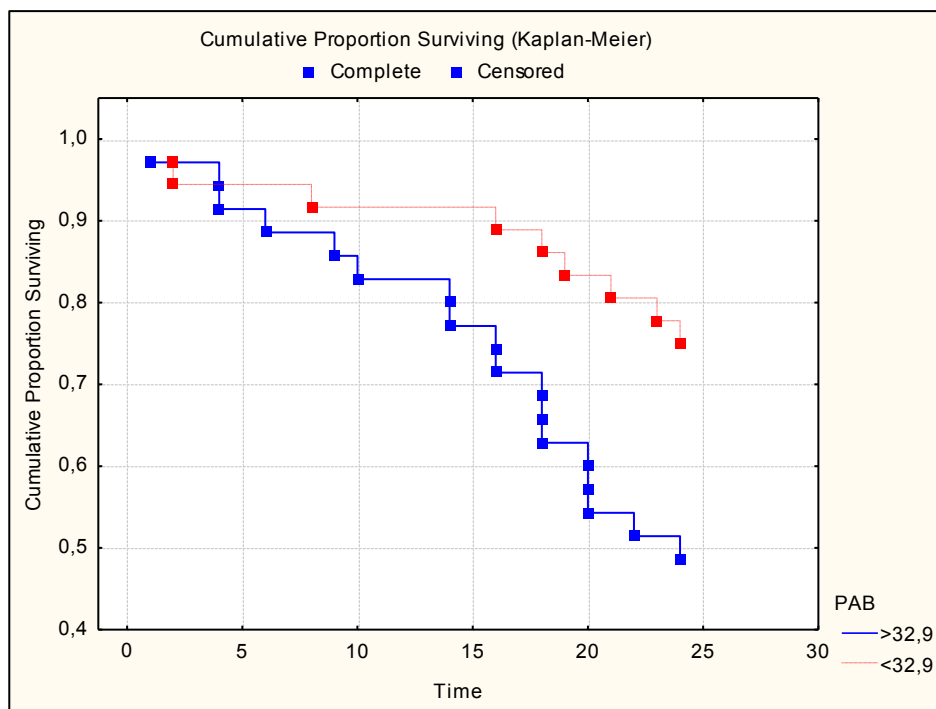
**Slika 30. Kaplan-Meierova kriva preživljavanja na osnovu cut-off koncentracija za RBP**



**Slika 31. Kaplan-Meierova kriva preživljavanja na osnovu cut-off koncentracija IGF-1**



**Slika 32. Kaplan-Meierova kriva preživljavanja na osnovu cut-off nivoa hsTnI**



**Slika 33. Kaplan-Meierova kriva preživljavanja na osnovu cut-off nivoa PAB**

U sledećem koraku kombinovali smo po dva parametra koji su pokazali statističku značajnost u log-rank analizi kako bi ustanovili da li kombinacija parametara na osnovu njihovih *cut-off* vrijednosti ima veću statističku značajnost u predikciji mortaliteta od pojedinačnog određivanja markera. U tabelama 18-26 prikazane su raspodjele pacijenata prema *cut-off* vrijednostima posmatranih parametara i opštem mortalitetu.

**Tabela 18. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i opštem mortalitetu (albumin i prealbumin)**

Albumin i Prealbumin	Ishod Živ	Ishod umro	Ukupno
<b>&gt;38 i &gt;0,3</b>	27	5	32
%	52,94%	17,86%	
<b>&lt;38 i &lt;0,3</b>	8	14	22
%	15,69%	50,00%	
<b>Ostalo</b>	16	9	25
%	31,37%	32,14%	
<b>Ukupno</b>	51	28	79

Iz tabele se vidi da je nakon dvije godine 5 pacijenata umrlo u grupi u kojoj je koncentracija albumina >38 g/L, a koncentracija prealbumina >0,3 g/L; u grupi u kojoj su oba biomarkera ispod *cut-off* vrijednosti umrlo je 14 pacijenata, a u grupi gdje je jedan parametar iznad, a drugi ispod *cut-off* vrijednosti umrlo je 9 pacijenata.

**Tabela 19. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i opštem mortalitetu (hsCRP i IL6)**

hcCRP i IL6	Ishod živ	Ishod Umro	Ukupno
<b>&gt;5 i &gt;3,4</b>	9	19	28
%	17,65%	67,86%	
<b>&lt;5 i &lt;3,4</b>	24	2	26
%	47,06%	7,14%	
<b>Ostalo</b>	18	7	25
%	35,29%	25,00%	
<b>Ukupno</b>	51	28	79

U kombinaciji CRP i IL6 čak 19 pacijenata je umrlo u grupi u kojoj su koncentracije oba markera veće od *cut-off* vrijednosti, 7 pacijenata je umrlo u grupi u kojoj je jedan marker iznad *cut-off* nivoa, a samo su 2 pacijenta nakon dvije godine umrli u grupi u kojoj su nivoi inflamatornih parametara bile ispod *cut-off* vrijednosti.

**Tabela 20. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i opštem mortalitetu (mokraćna kiselina posle HD i hsTnI)**

Uric posle i hsTnI	Ishod živ	Ishod umro	Ukupno
>150 i >26,2	2	13	15
%	3,92%	46,43%	
<150 i <26,2	29	6	35
%	56,86%	21,43%	
<b>Ostalo</b>	20	9	29
%	39,22%	32,14%	
<b>Ukupno</b>	51	28	79

Iz tabele se vidi da je nakon dvije godine 6 pacijenata umrlo u grupi u kojoj je koncentracija mokraćne kiseline nakon HD < 150  $\mu\text{mol/L}$ , a koncentracija hsTnI < 26,2 ng/L; u grupi u kojoj su oba biomarkera iznad *cut-off* vrijednosti umrlo je 13 pacijenata, a u grupi gdje je jedan parametar iznad, a drugi ispod *cut-off* vrijednosti umrlo je 9 pacijenata.

**Tabela 21. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i opštem mortalitetu (hsTnI i hsCRP)**

hsTnI-hsCRP	Ishod živ	Ishod umro	Ukupno
>26,2 i >5	2	12	14
%	3,92%	42,86%	
<26,2 i <5	28	3	31
%	54,90%	10,71%	
<b>Ostalo</b>	21	13	34
%	41,18%	46,43%	
<b>Ukupno</b>	51	28	79

U tabelama 21 i 22 prikazana je raspodjela pacijenata prema *cut-off* vrijednostima inflamatornih markera u kombinaciji sa hsTnI i opštim mortalitetom. Iz tabele se vidi da je nakon dvije godine samo 1 pacijent iz grupe gdje su hsTnI i IL-6 bili niski umro, a u grupi sa niskim hsCRP, umrla su 3 pacijenta. U grupama pacijenata sa jednim biomarkerom iznad, a drugim ispod određene *cut-off* vrijednosti umrlo je 13 pacijenata u grupi sa hsCRP i 10 njih u grupi sa IL-6, da bi mortalitet bio najveći u grupama gdje su biomarkeri bili visoki (12 pacijenata u grupi sa hsCRP i 17 u grupi sa IL-6).

**Tabela 22. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i opštem mortalitetu (hsTnI i IL6)**

hsTnI-IL6	Ishod živ	Ishod Umro	Ukupno
>26,2 i >3,4	8	17	25
%	15,69%	60,71%	
<26,2 i <3,4	23	1	24
%	45,10%	3,57%	
<b>Ostalo</b>	20	10	30
%	39,22%	35,71%	79
<b>Ukupno</b>	51	28	79

**Tabela 23. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i opštem mortalitetu (mokraćna kiselina nakon dijalize i hsCRP)**

Uric posle-hsCRP	Ishod živ	Ishod umro	Ukupno
>150 i >5	3	15	18
%	5,88%	53,57%	
<150 i <5	29	6	35
%	56,86%	21,43%	
<b>Ostalo</b>	19	7	26
%	37,25%	25,00%	
<b>Ukupno</b>	51	28	79

U tabelama 23 i 24 prikazana je raspodjela pacijenata prema *cut-off* vrijednostima inflamatornih markera u kombinaciji sa mokraćnom kiselinom nakon HD tretmana i opštim mortalitetom. Iz tabela se vidi da je nakon dvije godine umrlo 6 pacijenata iz grupe gdje su mokraćna kiselina i hsCRP bili niski, a u grupi sa IL-6 umrla su 2 pacijenta. U grupama pacijenata sa jednim biomarkerom iznad, a drugim ispod određene *cut-off* vrijednosti umrlo je 7 pacijenata u grupi sa hsCRP i 9 njih u grupi sa IL-6, da bi mortalitet bio najveći u grupama gdje su biomarkeri bili visoki (15 pacijenata u grupi sa hsCRP i 17 u grupi sa IL-6).

**Tabela 24. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i opštem mortalitetu (mokraćna kiselina nakon dijalize i IL6)**

Uric posle-IL-6	Ishod živ	Ishod umro	Ukupno
>150 i >3,4	3	17	20
%	5,88%	60,71%	
<150 i <3,4	18	2	20
%	35,29%	7,14%	
Ostalo	30	9	39
%	58,82%	32,14%	
<b>Ukupno</b>	<b>51</b>	<b>28</b>	<b>79</b>

**Tabela 25. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i opštem mortalitetu (hsTnI i prealbumin)**

hsTnI- prealbumin	Ishod živ	Ishod umro	Ukupno
<26,2 i >0,3	28	3	31
%	54,90%	10,71%	
>26,2 i <0,3	5	16	21
%	9,8%	57,14%	
Ostalo	18	9	27
%	35,29%	32,14%	
<b>Ukupno</b>	<b>51</b>	<b>28</b>	<b>79</b>

**Tabela 26. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i opštem mortalitetu (hsTnI i albumin)**

hsTnI-albumin	Ishod živ	Ishod umro	Ukupno
<26,2 i >38	19	1	20
%	37,25%	3,57%	
>26,2 i <38	7	14	21
%	13,72%	50,00%	
Ostalo	25	13	38
%	49,01%	46,43%	
<b>Ukupno</b>	<b>51</b>	<b>28</b>	<b>79</b>

U tabelama 25 i 26 prikazana je raspodjela pacijenata prema *cut-off* vrijednostima nutritivnih parametara u kombinaciji sa hsTnI i opštim mortalitetom. Iz tabela se vidi da je nakon dvije godine umrlo 16 pacijenta iz grupe sa prealbuminom gdje je loš nutritivni status, a visok hsTnI, dok je u analognoj grupi sa albuminom umrlo 14 pacijenata. U grupama pacijenata gdje je biomarker nutritivnog statusa bio dobar, a hsTnI niži od *cut-off* vrijednosti umro je samo 1 pacijent u grupi sa albuminom i 3 pacijenta u grupi sa prealbuminom.

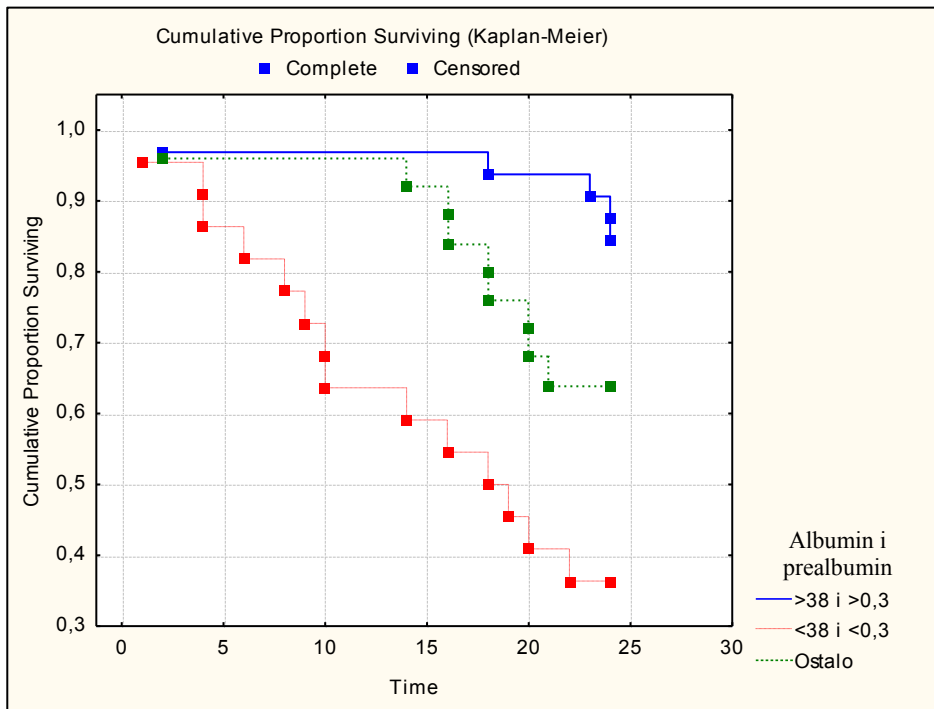


Da bi procijenili statističku značajnost u predikciji mortaliteta grupa definisanih na osnovu cut-of vrijednosti kombinovanih parametara koristili smo  $\chi^2$  (hi kvadrat) test (tabela 27).

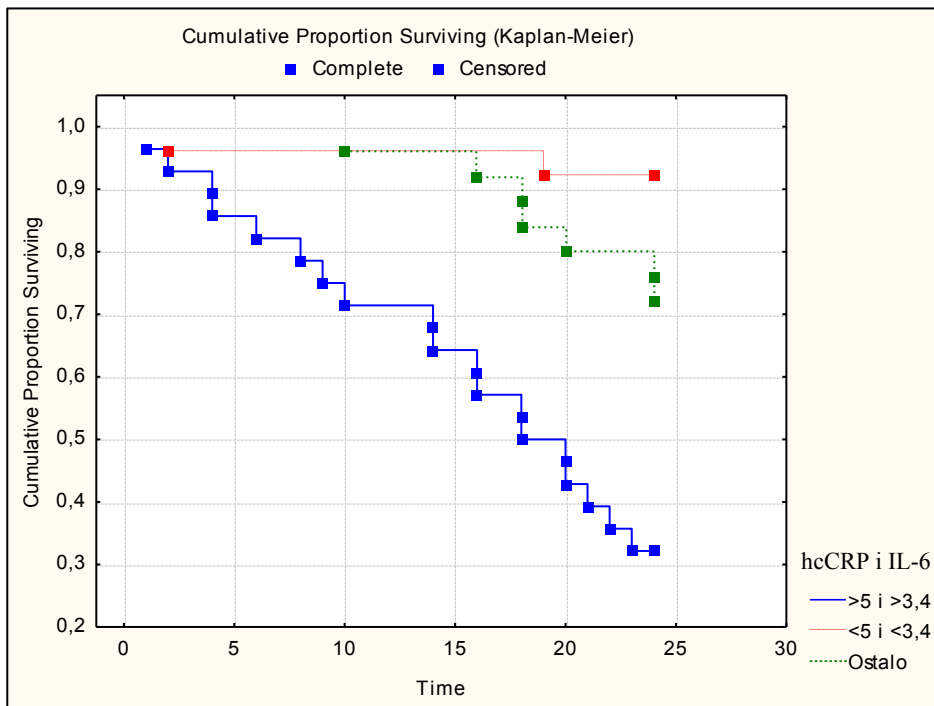
**Tabela 27. Kombinacije laboratorijskih parametara u predikciji opšteg mortaliteta - Hi kvadrat test**

Kombinacija lab. parametara	Chi2	df	p
Albumin i prealbumin	16,125	3	<0,001
hcCRP i IL-6	22,779	3	<0,001
Uric posle i hsTnI	23,535	3	<0,001
hsTnI i hsCRP	27,203	3	<0,001
Uric posle i IL-6	30,461	3	<0,001
Uric posle i hsCRP	28,535	3	<0,001
hsTnI i IL-6	20,414	3	<0,001
hsTnI i prealbumin	29,508	3	<0,001
hsTnI i albumin	19,910	3	<0,001

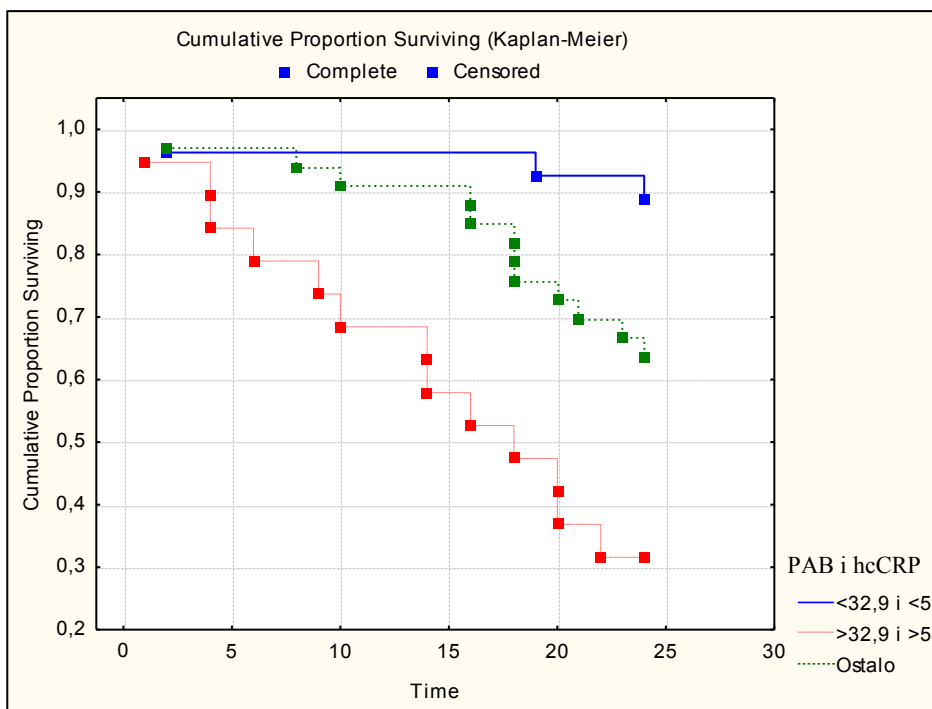
Hi-kvadrat test pokazuje da postoji statistički značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti kombinacija laboratorijskih parametara u odnosu na opšti moratalitet ( $p < 0,001$ ). Na slikama 34–41 prikazane su Kaplan-Meierove krive preživljavanja na osnovu *cut-off* vrijednosti kombinovanih parametara.



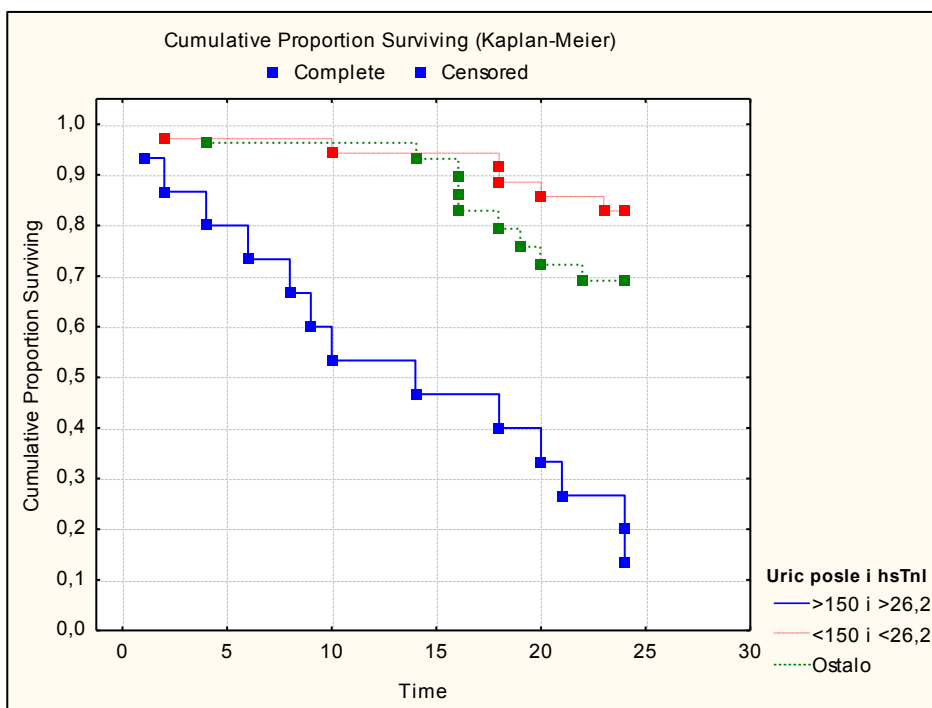
**Slika 34. Kaplan- Meierove krive preživljavanja na osnovu kombinovanih cut-off vrijednosti albumina i prealbumina**



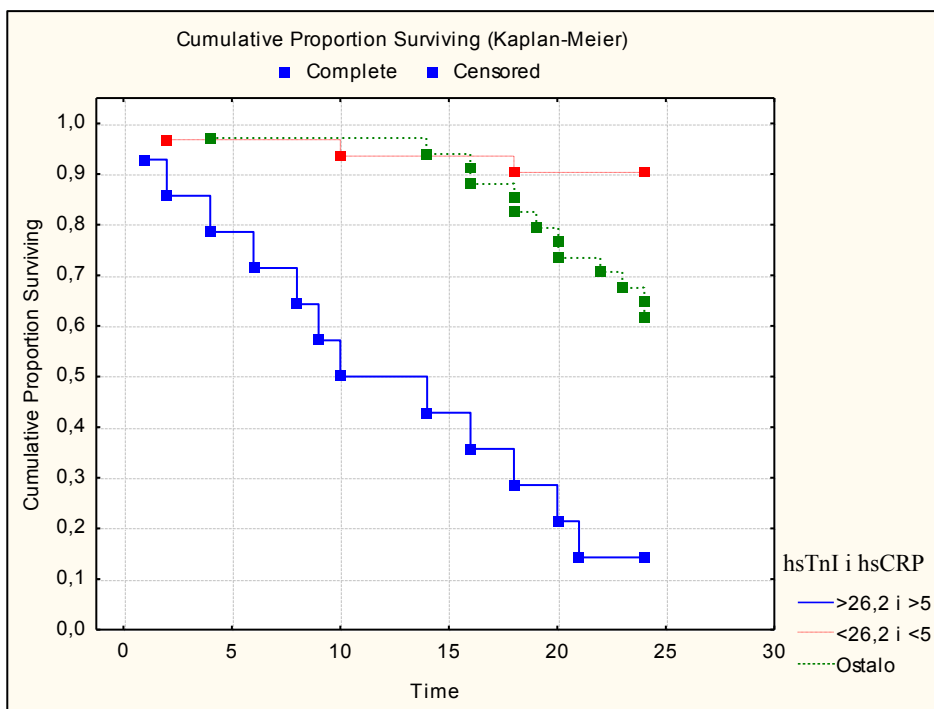
**Slika 35. Kaplan- Meierove krive preživljavanja na osnovu kombinovanih cut-off vrijednosti hsCRP i IL-6**



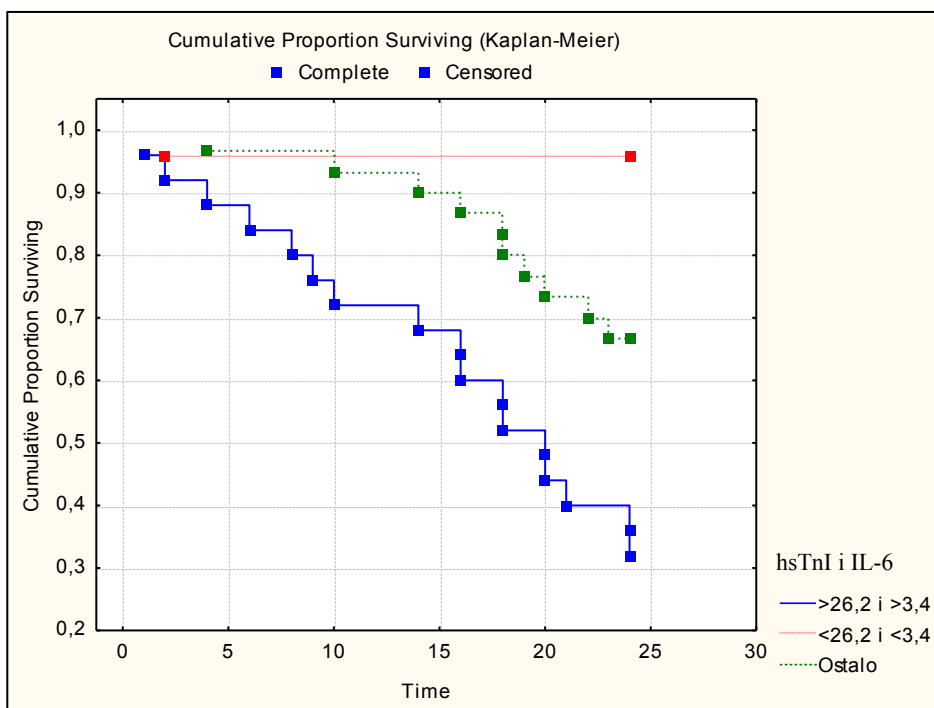
**Slika 36. Kaplan- Meierove krive preživljavanja na osnovu kombinovanih cut-off vrijednosti hsCRP i PAB**



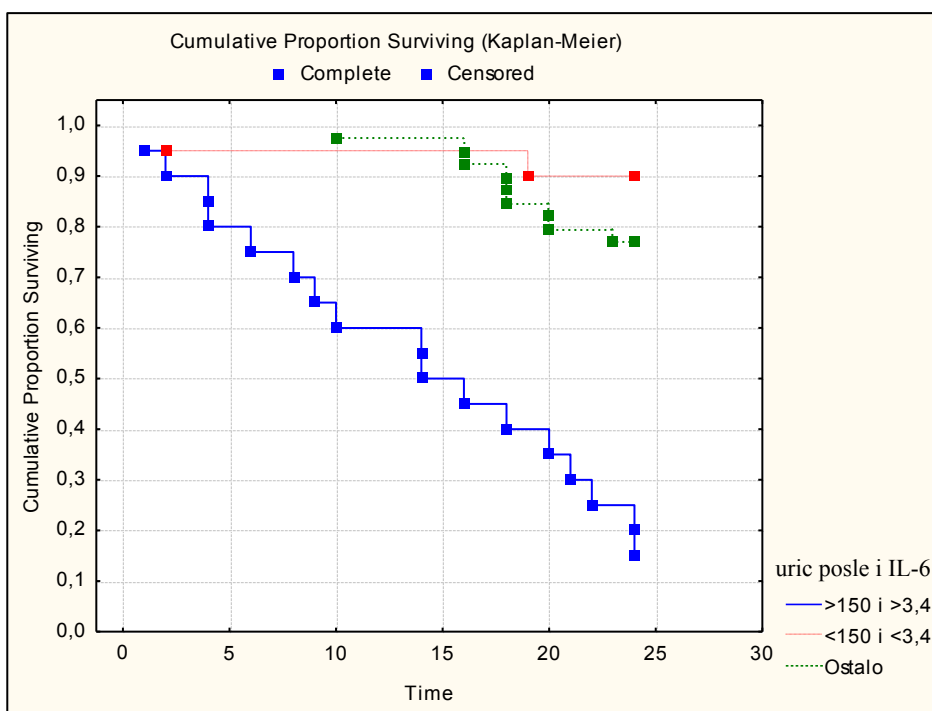
**Slika 37. Kaplan- Meierove krive preživljavanja na osnovu kombinovanih cut-off vrijednosti hsTnI i mokraćne kiselin nakon HD tretmana**



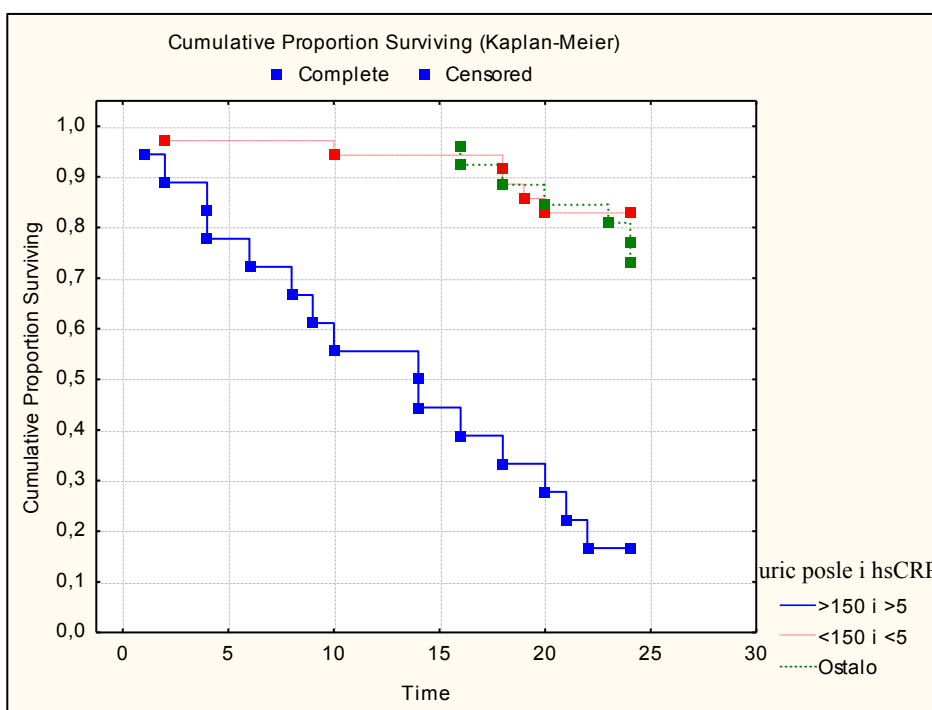
**Slika 38. Kaplan- Meierove krive preživljavanja na osnovu kombinovanih cut-off vrijednosti hsTnI i hsCRP**



**Slika 39. Kaplan-Meierove krive preživljavanja na osnovu kombinovanih cut-off vrijednosti hsTnI i IL-6**



**Slika 40. Kaplan-Meierove krive preživljavanja na osnovu kombinovanih cut-off vrijednosti IL-6 i mokraćne kiseline nakon dijaliznog tretmana**



**Slika 41. Kaplan-Meierove krive preživljavanja na osnovu kombinovanih cut-off vrijednosti hsCRP i mokraćne kiseline nakon dijaliznog tretmana**

*Proportional hazard (Cox) regression* pokazuje da laboratorijski parametri Uric posle HD, PAB, IL-6, Prealbumin, RBP i hsTnI imaju statistički značajan uticaj na mortalitet uzrokovan kardiovaskularnim bolestima ( $p < 0,05$ ). Laboratorijski parametri BuChE i

hcCRP imaju statistički granično značajan uticaj (p je približno jednaka 0,05) (tabela 28).

**Tabela 28. Testiranje uticaja laboratorijskih parametara oksidativnog, inflamatornog i nutritivnog statusa na predikciju mortaliteta uzrokovanog kardiovaskularnim bolestima**

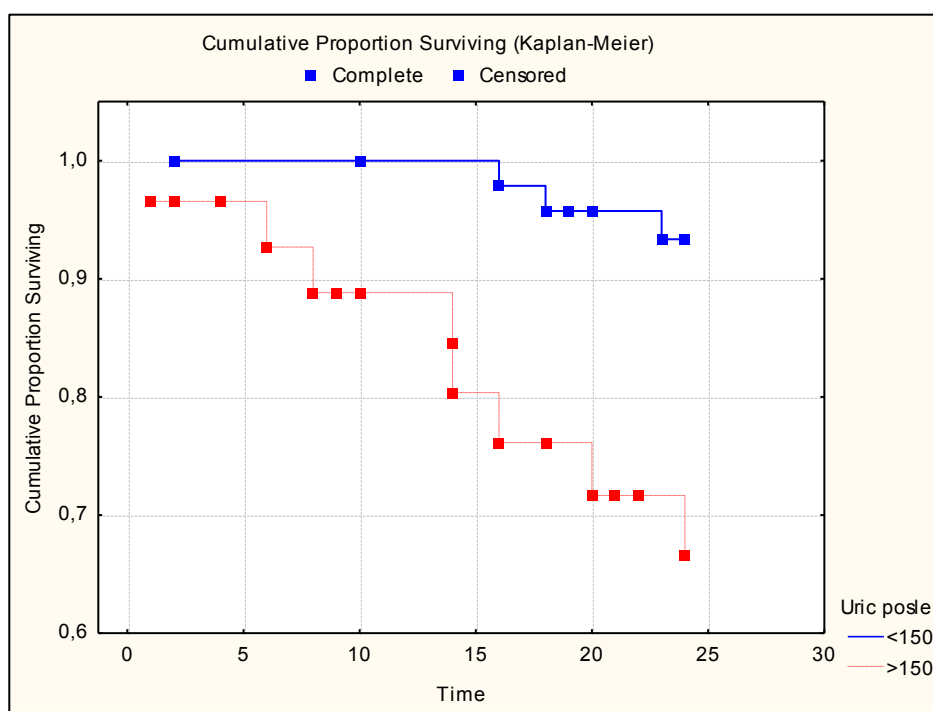
Proportional hazard (Cox) regression						
Dependent Variable: <i>Mjeseci</i> , Censoring var.: <i>Ishod</i>						
Lab parametri	Beta	Standard	t-value	exponent	Wald	p
TAS, mmol/L	-0,555	1,152	-0,482	0,574	0,232	0,630
TOS, $\mu$ mol/L	0,015	0,013	1,169	1,015	1,367	0,242
PAB, HK jedinice	0,032	0,011	2,909	1,033	9,297	<b>0,002</b>
SOD, U/mL	0,008	0,006	1,443	1,008	2,082	0,149
MPO, pmol/L	0,001	0,001	1,038	1,001	1,077	0,299
Uric pos, $\mu$ mol/L	0,017	0,007	2,399	1,017	5,753	<b>0,016</b>
BuChE, U/L	-0,000	0,000	-1,902	1,000	3,618	<b>0,057</b>
hcCRP, mg/L	0,023	0,012	1,927	1,024	3,714	<b>0,054</b>
IL-6, pg/mL	0,028	0,011	2,617	1,028	6,847	<b>0,009</b>
Rezistin, mg/L	0,366	0,899	0,407	1,442	0,166	0,684
Albumin, g/L	-0,052	0,081	-0,643	0,949	0,413	0,520
Prealbumin, g/L	-12,218	4,107	-2,975	0,000	8,852	<b>0,003</b>
RBP, g/L	-24,136	9,924	-2,432	0,000	5,916	<b>0,015</b>
IGF-1, ng/mL	-0,003	0,003	-1,013	0,997	1,027	0,311
IGFBP-3, $\mu$ g/mL	-0,205	0,163	-1,257	0,815	1,581	0,209
Transferin, g/L	0,374	0,724	0,517	1,454	0,267	0,605
BMI, kg/m <sup>2</sup>	0,018	0,068	0,269	1,018	0,072	0,788
hsTnI, ng/L	0,010	0,003	3,371	1,010	11,361	<b>0,001</b>
MDA, $\mu$ mol/L	-0,013	0,316	-0,040	0,988	0,002	0,968

Log-rank test (tabela 29) pokazuje da postoji statistički značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti laboratorijskih parametara u odnosu na mortalitet uzrokovan KVB za sledeće parametre: mokraćnu kiselinu nakon dijalize, hsCRP, IL-6, prealbumin, RBP i hsTnI ( $p < 0,05$ ). Postoji i statistički značajna razlika za PAB na nivou značajnosti od 90% ( $p < 0,10$ ).

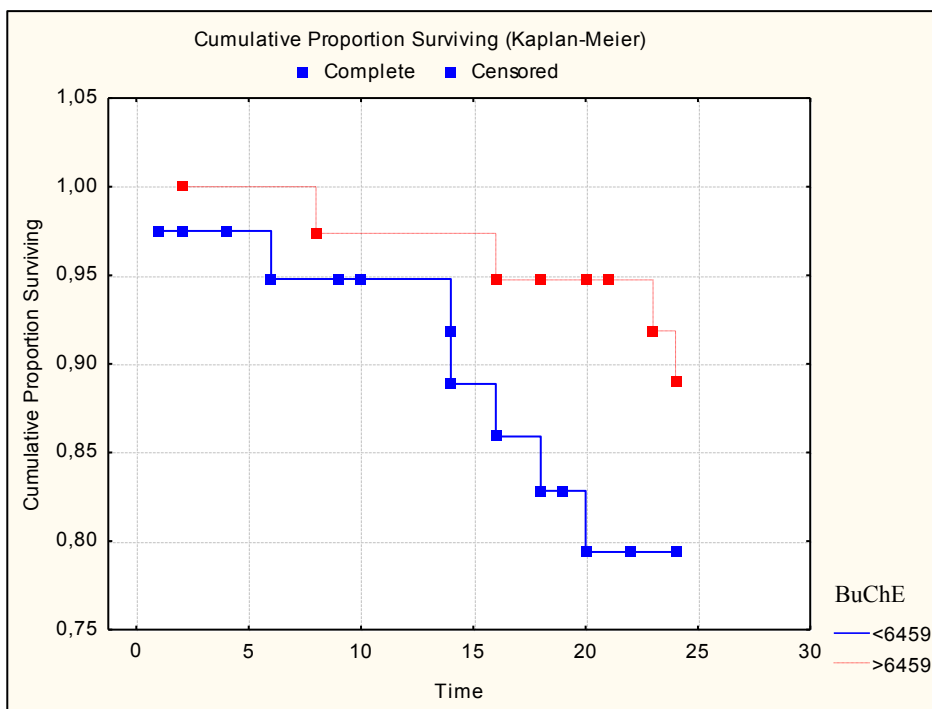
**Tabela 29. Log-Rank test za KVB mortalitet**

Log-Rank Test		
Lab parametri	Test statistics	p
Uric pos, $\mu\text{mol/L}$	-2,923	<b>0,003</b>
BuChE, U/L	1,256	0,209
hcCRP, mg/L	2,089	<b>0,037</b>
IL-6, pg/mL	2,940	<b>0,003</b>
Albumin, g/L	-1,393	0,163
Prealbumin, g/L	-2,203	<b>0,028</b>
RBP, g/L	-2,141	<b>0,032</b>
IGF-1, ng/mL	-0,581	0,561
hsTnI, ng/L	-2,742	<b>0,006</b>
TOS, $\mu\text{mol/L}$	1,516	0,129
PAB, HK jedinice	1,862	<b>0,063</b>

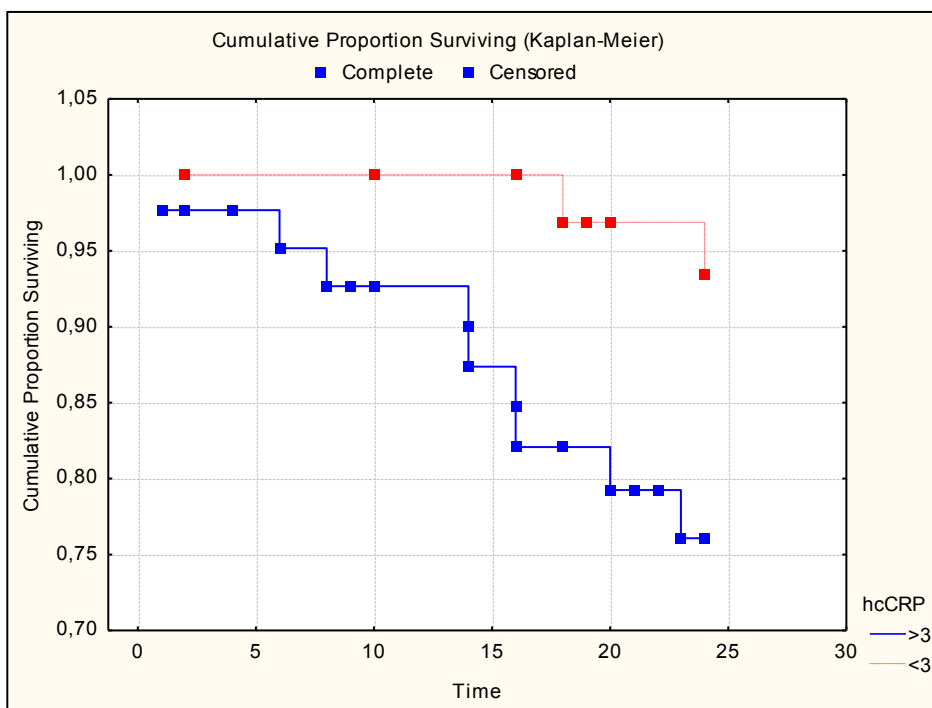
Slike 42 - 48 prikazuju Kaplan-Meierova krive preživljavanja na osnovu *cut-off* nivoa ispitivanih biohemijskih parametara.



**Slika 42. Kaplan-Meierova kriva preživljavanja za KVB mortalitet na osnovu *cut-off* koncentracija mokraćne kiseline nakon HD tretmana**

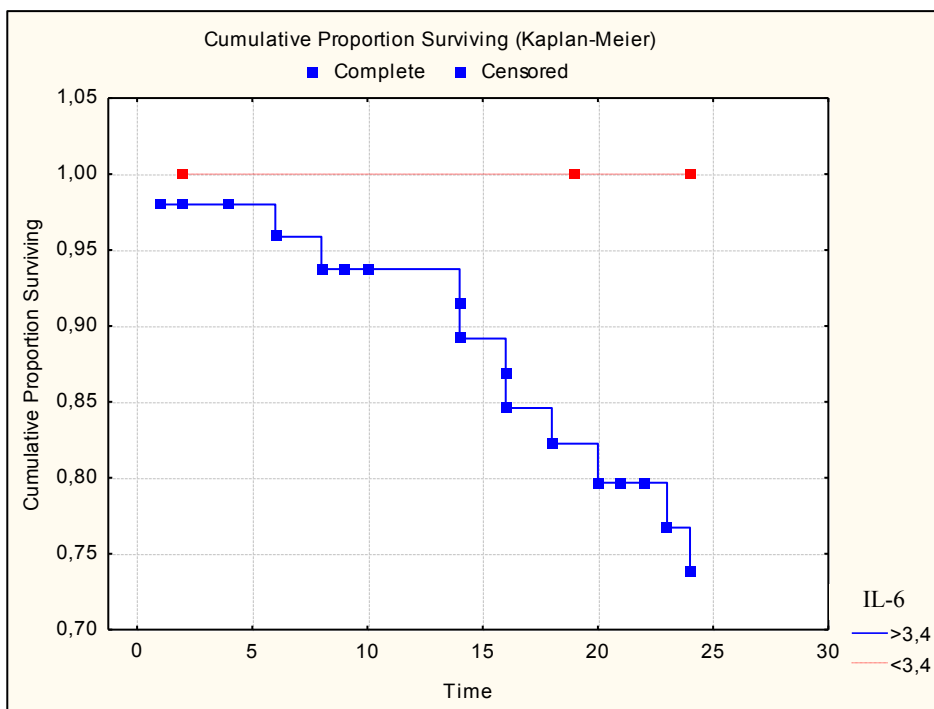


**Slika 43. Kaplan-Meierova kriva preživljanja za KVB mortalitet na osnovu cut-off aktivnosti BuChE**

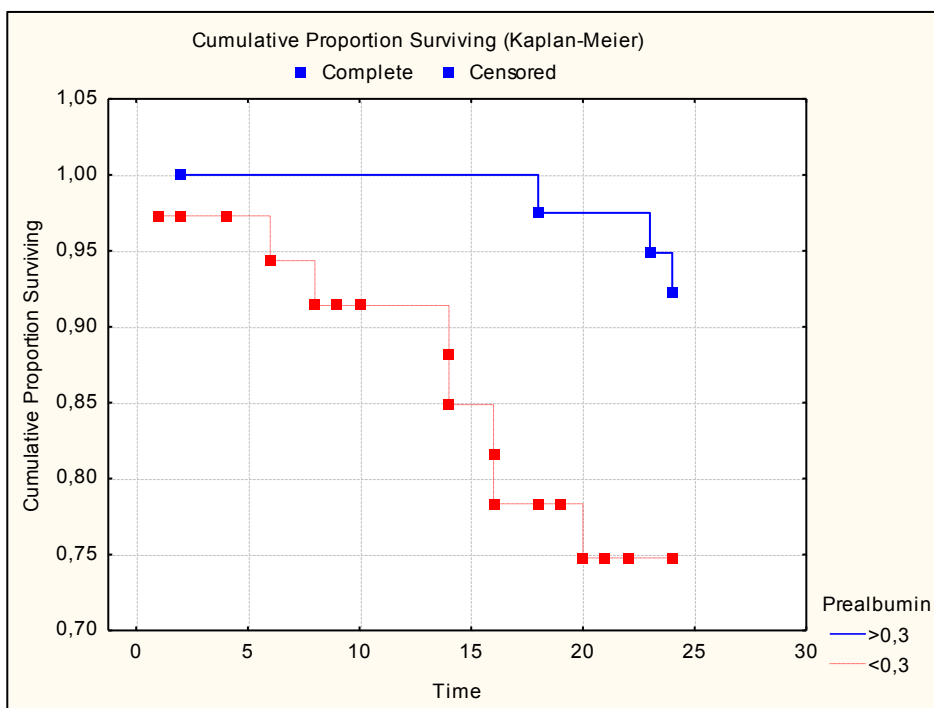


**Slika 44. Kaplan-Meierova kriva preživljanja za KVB mortalitet na osnovu cut-off koncentracija CRP za KVB**

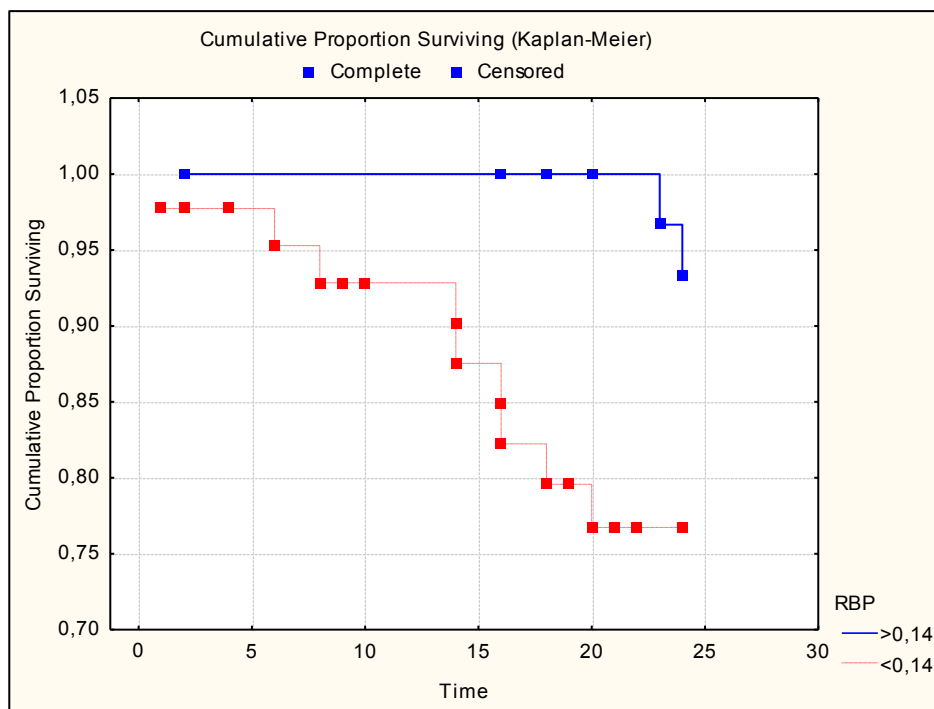




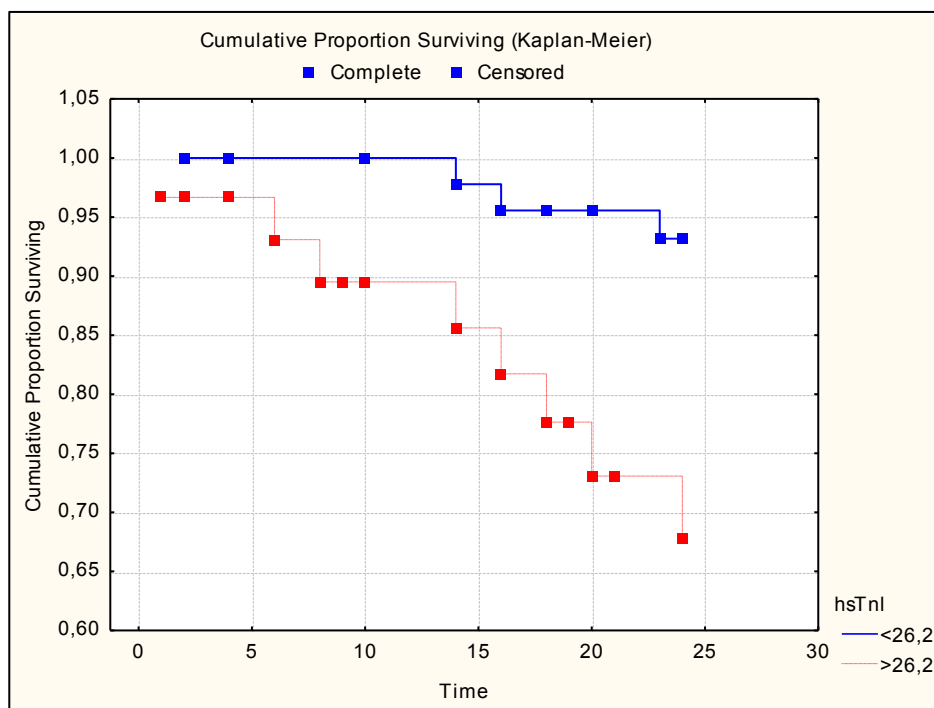
**Slika 45. Kaplan-Meierova kriva preživljanja za KVB mortalitet na osnovu cut-off nivoa IL-6**



**Slika 46. Kaplan-Meierova kriva preživljanja za KVB mortalitet na osnovu cut-off koncentracije prealbumina**



**Slika 47. Kaplan-Meierova kriva preživljavanja za KVB mortalitet na osnovu cut-off nivoa RBP**



**Slika 48. Kaplan-Meierova kriva preživljavanja za KVB mortalitet na osnovu cut-off nivoa hsTnI**

Kao i kod analize prediktivne sposobnosti parametara za opšti mortalitet, kombinovali smo po dva parametra koji su pokazali statističku značajnost u log-rank analizi kako bi ustanovili da li kombinacija parametara na osnovu njihovih *cut-off* vrijednosti ima veću

statističku značajnost u predikciji mortaliteta od pojedinačnog određivanja markera. U tabelama 30–39 prikazane su raspodjele pacijenata prema *cut-off* vrijednostima posmatranih parametara i KVB mortalitetu.

**Tabela 30. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i KVB mortalitetu (albumin i prealbumin)**

Albumin i Prealbumin	Ishod KVB živ	Ishod KVB umro	Ukupno
>38 i >0,3	30	2	32
%	44,12%	18,18%	
<38 i <0,3	17	5	22
%	25,00%	45,45%	
Ostalo	21	4	25
%	30,88%	36,36%	
<b>Ukupno</b>	<b>68</b>	<b>11</b>	<b>79</b>

Od 11 pacijenata umrlih usled neke KVB njih 5 je imalo koncentracije albumina i prealbumina ispod preporučenog nutritivnog *cut-off*-a. Jedan od ta dva parametra kod 4 pacijenta bio je niži od *cut-off* vrijednosti, a 2 pacijenta su imala preporučene koncentracije kako albumina tako i RBP (tabela 30).

**Tabela 31. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i KVB mortalitetu (hsCRP i IL-6)**

hcCRP KVB i IL6	Ishod KVB živ	Ishod KVB umro	Ukupno
>3 i >3,4	24	9	33
%	35,29%	81,82%	
<3 i <3,4	19	0	19
%	27,94%	0,00%	
Ostalo	25	2	27
%	36,76%	18,18%	
<b>Ukupno</b>	<b>68</b>	<b>11</b>	<b>79</b>

Nijedan pacijent iz grupe KVB mortalitet nije imao koncentracije hsCRP i IL-6 ispod *cut-off* vrijednosti. Dva pacijenata su imala jedan od ta dva biomarkera viši od *cut-off* nivoa, a njih 9 je imalo visoke bazalne koncentracije hsCRP i IL-6 (tabela 31). Kombinaciju ova dva parametra nismo mogli statistički obraditi zbog nedostatka umrlih pacijenata u grupi <3 mg/L hsCRP, <3,4 ng/mL IL-6.

**Tabela 32. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i KVB mortalitetu (mokraćna kiselina nakon HD i hsTnI)**

Uric posle i hsTnI	Ishod KVB živ	Ishod KVB umro	Ukupno
>150 i >26,2	9	6	15
%	13,24%	54,55%	
<150 i <26,2	34	1	35
%	50,00%	9,09%	
<b>Ostalo</b>	25	4	29
%	36,76%	36,36%	
<b>Ukupno</b>	<b>68</b>	<b>11</b>	<b>79</b>

Koncentracije hsTnI i mokraćne kiseline nakon HD tretmana iznad preporučene *cut-off* vrijednosti imalo je 6 preminulih pacijenata, 4 pacijenta su imala visok jedan od ta dva parametra, a 1 pacijent je imao koncentracije oba biomarkera ispod *cut-off* vrijednosti (tabela 32).

**Tabela 33. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i KVB mortalitetu (prealbumin i hsTnI)**

hsTnI i prealbumin	Ishod KVB živ	Ishod KVB umro	Ukupno
>26,2 i <0,3	14	7	21
%	20,59%	63,64%	
<26,2 i >0,3	30	1	31
%	44,12%	9,09%	
<b>Ostalo</b>	24	3	27
%	35,29%	27,27%	
<b>Ukupno</b>	<b>68</b>	<b>11</b>	<b>79</b>

U tabelama 33 i 34 prikazana je raspodjela pacijenata prema *cut-off* vrijednostima hsTnI i albumina ili prealbumina. U grupi sa hsTnI iznad i prealbuminom ili albuminom ispod *cut-off* nivoa umrlo je 7 pacijenata.

**Tabela 34. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i KVB mortalitetu (albumin i hsTnI)**

hsTnI i albumin	Ishod KVB živ	Ishod KVB umro	Ukupno
>26,2 i <38	14	7	21
%	20,59%	63,64%	
<26,2 i >38	19	1	20
%	27,94%	9,09%	
<b>Ostalo</b>	35	3	38
%	51,47%	27,27%	
<b>Ukupno</b>	<b>68</b>	<b>11</b>	<b>79</b>

**Tabela 35. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i KVB mortalitetu (mokraćna kiselina nakon HD i IL-6)**

uric posle i IL-6	Ishod KVB živ	Ishod KVB umro	Ukupno
>150 i >3,4	12	8	20
%	17,65%	72,73%	
<150 i <3,4	20	0	20
%	29,41%	0,00%	
<b>Ostalo</b>	36	3	39
%	52,94%	27,27%	
<b>Ukupno</b>	<b>68</b>	<b>11</b>	<b>79</b>

Bazalne koncentracije mokraćne kiseline i IL-6 niže od *cut-off* vrijednosti ova dva parametra nije imao nijedan pacijent iz grupe KVB mortalitet. Koncentracije oba biomarkera više od *cut-off* vrijednosti imalo je 8 pacijenata, a 3 pacijenta su imala visok jedan od ta dva biomarkera (tabela 35). Kombinaciju ova dva parametra nismo mogli statistički obraditi zbog nedostatka umrlih pacijenata u grupi <150  $\mu\text{mol/L}$ , <3,4  $\text{pg/mL}$ .

Bazalne koncentracije kombinovanih hsTnI i hsCRP kao i hsTnI i IL-6 niže od *cut-off* vrijednosti ovih parametara nije imao nijedan pacijent iz grupe KVB mortalitet. Koncentracije oba biomarkera više od *cut-off* vrijednosti u grupi sa kombinovanim hsTnI i IL-6 imalo je 8 pacijenata, dok je u grupi sa kombinovanim hsTnI i hsCRP 6 pacijenata imalo bazalne koncentracije ova dva parametra iznad definisane *cut-off* vrijednosti. Jedan od ta dva biomarkera visok kod hsTnI/IL-6 kombinacije imala su 3 pacijenta, a 5 pacijenata je u kombinaciji hsTnI/hsCRP imalo koncentraciju jednog od ta dva parametra iznad *cut-off* vrijednosti (tabele 36 i 37). Kombinaciju ovih parametara nismo mogli statistički obraditi zbog nedostatka umrlih pacijenata u grupi <26,2  $\text{ng/L}$ , <3,4  $\text{pg/mL}$ , <3  $\text{mg/L}$ .

**Tabela 36. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i KVB mortalitetu (hsTnI i hsCRP)**

hsTnI i hsCRP KVB	Ishod KVB živ	Ishod KVB umro	Ukupno
>26,2 i >3	13	6	19
%	19,12%	54,55%	
<26,2 i <3	24	0	24
%	35,29%	0,00%	
Ostalo	31	5	36
%	45,59%	45,45%	
<b>Ukupno</b>	<b>68</b>	<b>11</b>	<b>79</b>

**Tabela 37. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i KVB mortalitetu (hsTnI i IL-6)**

hsTnI i IL-6	Ishod KVB živ	Ishod KVB umro	Ukupno
>26,2 i >3,4	17	8	25
%	25,00%	72,73%	
<26,2 i <3,4	24	0	24
%	35,29%	0,00%	
Ostalo	27	3	30
%	39,71%	27,27%	
<b>Ukupno</b>	<b>68</b>	<b>11</b>	<b>79</b>

U tabeli 38. može se vidjeti da je 7 pacijenata umrlo u grupi sa oba kombinovana parametra (mokraćna kiselina nakon dijalize i hsCRP) iznad definisane *cut-off* vrijednosti, 3 pacijenta imaju jedan od dva markera iznad *cut-off* vrijednosti i kod jednog pacijenta bazalne koncentracije hsCRP definisanog za KVB i mokraćne kiseline nakon dijalize bile su niže od *cut-off* vrijednosti.

**Tabela 38. Raspodjela pacijenata prema cut-off vrijednostima posmatranih parametara i KVB mortalitetu (mokraćna kiselina nakon HD i hsCRP)**

uric posle i hsCRP KVB	Ishod KVB živ	Ishod KVB umro	Ukupno
>150 i >3	13	7	20
%	19,12%	63,64%	
<150 i <3	24	1	25
%	35,29%	9,09%	
<b>Ostalo</b>	31	3	34
%	45,59%	27,27%	
Ukupno	68	11	79

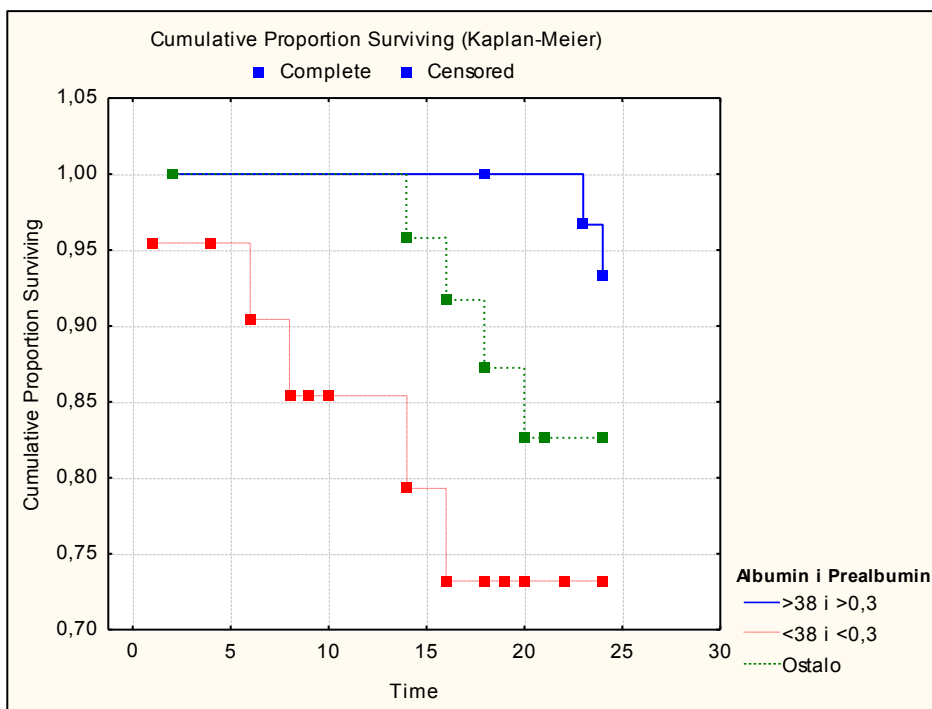
Da bi procijenili statističku značajnost grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti kombinovanih parametara u predikciji KVB mortaliteta koristili smo  $\chi^2$  (hi kvadrat) test. U tabeli 39 prikazani su njegovi rezultati.

**Tabela 39. Kombinacije laboratorijskih parametara u predikciji KVB mortaliteta - Hi kvadrat test**

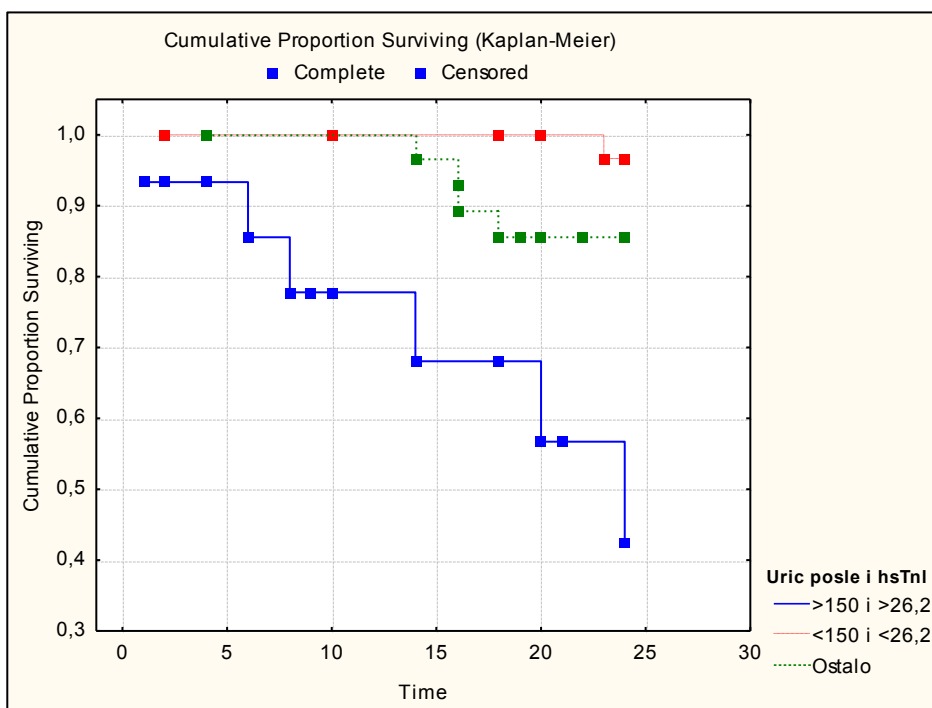
Kombinacija lab parametara	Chi2	df	p
albumin i prealbumin	6,043	3	<b>0,049</b>
uric posle i hsTnI	15,305	3	<b>&lt;0,001</b>
hsTnI i prealbumin	22,200	3	<b>&lt;0,001</b>
hsTnI i albumin	16,431	3	<b>&lt;0,001</b>
uric posle i hsCRP KVB	14,856	3	<b>&lt;0,001</b>

Hi-kvadrat test pokazuje da postoji statistički značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti kombinacija laboratorijskih parametara u odnosu na KVB mortalitet ( $p < 0,05$ ).

Na slikama 49–51 prikazane su Kaplan-Meierove krive preživljavanja na osnovu kombinovanih *cut-off* vrijednosti biohemijskih parametara.

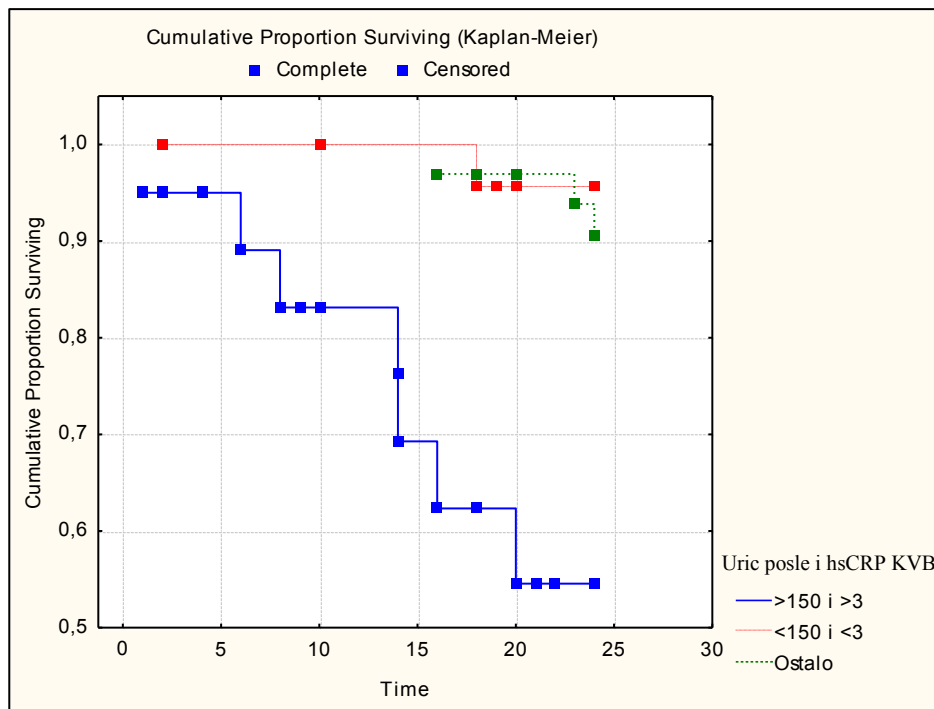


**Slika 49. Kaplan-Meierove krive preživljavanja za KVB na osnovu kombinovanih cut-off vrijednosti albumina i prealbumina**



**Slika 50. Kaplan-Meierove krive preživljavanja za KVB na osnovu kombinovanih cut-off vrijednosti hsTnI i mokraćne kiseline nakon dijaliznog tretmana**





**Slika 51. Kaplan-Meierove krive preživljavanja za KVB na osnovu kombinovanih cut-off vrijednosti hsCRP i mokraćne kiseline nakon dijaliznog tretmana**

Markere koji su se u ispitivanoj populaciji pokazali kao najbolji prediktori mortaliteta (opšteg i KVB) podijelili smo na tercile, a zatim smo testirali da li postoji statistički značajna razlika svih kliničkih, antropometrijskih i biohemijskih parametara ispitivanih u ovoj studiji po tercilima koncentracija biomarkera. U tabelama 40–44 prikazani su samo parametri koji su ANOVA testom pokazali statistički značajnu razliku između grupa, a naglašeni su samo oni parametri kod kojih je Tukey post hoc analizom dokazana statistički značajna razlika između I i III terčila biomarkera, a koncentracije parametara su se po tercilima povećavale ili smanjivale.

U tabeli 40 prikazani su tercili hsTnI. Koncentracije prealbumina i IGF-1 su se smanjivale po tercilima hsTnI, dok je koncentracija PAB rasla. U tabeli 41 prikazano je povećanje vrijednosti BMI i hsCRP po tercilima mokraćne kiseline nakon HD tretmana i smanjenje koncentracija TC, HDL-C i LDL-C. Promjena ispitivanih parametara po tercilima prealbumina prikazana je u tabeli 42. IL-6, hsCRP, hsTnI i PAB su se smanjivali po tercilima ovog biomarkera dok su se RBP, ApoB, kreatinin, TC, trig, LDL-C, albumin, BuChE, IGF-1 i IGFBP-3 povećavali. ApoAI, kreatinin, prealbumin i BuChE su se po tercilima IL-6 smanjivali, dok su hsCRP, SOD/Hgb i PAB rasli (tabela 43). ApoAI, HDL-C i prealbumin su opadali po tercilima koncentracija PAB, dok su rasli SOD/Hgb, IL-6 i hsTnI (tabela 44).

**Tabela 40. Laboratorijski parametri raspoređeni po tercilima koncentracije hsTnI**

<b>hsTnI koncentracije; terčili</b>				
<b>Parametar</b>	<b>I tercil (hsTnI &lt; 10ng/L)</b>	<b>II tercil (hsTnI 10 - 28 ng/L)</b>	<b>III tercil (hsTnI &gt; 28 ng/L)</b>	<b>p<sup>1</sup></b>
Prealbumin, g/L	<b>0,34±0,06<sup>b</sup></b>	<b>0,29±0,08</b>	<b>0,26±0,08<sup>b</sup></b>	<b>0,001</b>
Rezistin, mg/L	0,61±0,29 <sup>a</sup>	0,94±0,42 <sup>a</sup>	0,71±0,28	<b>0,010</b>
PAB, HK jedinice	<b>14,87±15,32<sup>b</sup></b>	<b>24,60±18,98<sup>c</sup></b>	<b>41,83±25,97<sup>b,c</sup></b>	<b>0,001</b>
MDA, μmol/L	3,97±0,96 <sup>a</sup>	3,32±0,76 <sup>a,c</sup>	4,00±0,89 <sup>c</sup>	<b>0,009</b>
IGF-1, ng/mL	<b>311,42±131,06<sup>a,b</sup></b>	<b>226,00±127,06<sup>a</sup></b>	<b>183,82±113,01<sup>b</sup></b>	<b>0,002</b>

<sup>1</sup>Kontinualne varijable upoređivane su ANOVA-om (Tukey's post hoc test);

<sup>a</sup>Značajna razlika između I i II terčila;

<sup>b</sup>Značajna razlika između I i III terčila;

<sup>c</sup>Značajna razlika između II i III terčila

**Tabela 41. Laboratorijski parametri raspoređeni po tercilima koncentracije mokraćne kiseline nakon HD (Uric posle)**

<b>Uric posle koncentracije; terčili</b>				
<b>Parametar</b>	<b>I tercil (Uric &lt;114 μmol/L)</b>	<b>II tercil (Uric 114-153 μmol/L)</b>	<b>III tercil (Uric &gt;153 μmol/L)</b>	<b>p<sup>1</sup></b>
BMI, kg/m <sup>2</sup>	<b>22,14±3,88<sup>b</sup></b>	<b>24,62±3,89</b>	<b>26,14±4,26<sup>b</sup></b>	<b>0,003</b>
Apo AI, g/L	1,36±0,22	1,37±0,25 <sup>c</sup>	1,21±0,22 <sup>c</sup>	<b>0,031</b>
hsCRP, mg/L	<b>2,71±2,04<sup>b</sup></b>	<b>6,27±6,35</b>	<b>15,67±32,03<sup>b</sup></b>	<b>0,050</b>
TC, mmol/L	<b>4,40±0,92<sup>b</sup></b>	<b>4,24±0,73</b>	<b>3,70±0,87<sup>b</sup></b>	<b>0,009</b>
HDL-C, mmol/L	<b>1,03±0,29<sup>b</sup></b>	<b>0,91±0,41</b>	<b>0,80±0,28<sup>b</sup></b>	<b>0,047</b>
LDL-C, mmol/L	<b>2,71±0,77<sup>b</sup></b>	<b>2,56±0,59</b>	<b>2,15±0,58<sup>b</sup></b>	<b>0,012</b>
PAB, HK jedinice	22,50±16,15 <sup>b</sup>	18,71±11,16 <sup>c</sup>	42,27±30,90 <sup>b,c</sup>	<b>0,003</b>

<sup>1</sup>Kontinualne varijable upoređivane su ANOVA-om (Tukey's post hoc test);

<sup>a</sup>Značajna razlika između I i II terčila;

<sup>b</sup>Značajna razlika između I i III terčila;

<sup>c</sup>Značajna razlika između II i III terčila

**Tabela 42. Laboratorijski parametri raspoređeni po tercilima koncentracije prealbumina**

Tercili prealbumina				
Parametar	I tercil (<0,27 g/L)	II tercil (0,27-0,34 g/L)	III tercil (>0,34 g/L)	P <sup>1</sup>
RBP, g/L	0,10±0,02 <sup>a,b</sup>	0,14±0,03 <sup>a,c</sup>	0,17±0,03 <sup>b,c</sup>	<0,001
Apo B, g/L	0,71±0,17 <sup>b</sup>	0,76±0,15 <sup>c</sup>	0,91±0,20 <sup>b,c</sup>	<0,001
hs CRP, mg/L	16,00±33,01 <sup>b</sup>	6,34±7,80	3,33±2,87 <sup>b</sup>	0,059
Kreatinin μmol/L	862,6±223,8 <sup>b</sup>	894,3±165,2 <sup>c</sup>	1109,1±180,3 <sup>b,c</sup>	<0,001
TC, mmol/L	3,56±0,84	4,15±0,61	4,61±0,86	<0,001
Trig, mmol/L	1,23±0,44 <sup>b</sup>	1,45±0,54 <sup>c</sup>	2,00±1,26 <sup>b,c</sup>	0,004
LDL-C, mmol/L	2,11±0,57 <sup>b</sup>	2,49±0,49	2,86±0,76 <sup>b</sup>	<0,001
SOD/Hgb, U/g Hgb	1720,5±701,4 <sup>a</sup>	1299,5±425,3 <sup>a</sup>	1470,6±496,8	0,027
Albumin, g/L	36,42±4,49 <sup>b</sup>	37,42±2,98 <sup>c</sup>	39,77±2,72 <sup>b,c</sup>	0,003
hsTnI, ng/L	39,00(10,80-58,50) <sup>b</sup>	13,00(9,75-31,75)	9,00(5,75-22,25) <sup>b</sup>	0,034
PAB, HK jedinice	43,64±28,05 <sup>b</sup>	25,33±22,37	18,27±13,47 <sup>b</sup>	0,002
MDA, μmol/L	3,67±0,85	3,47±0,90 <sup>c</sup>	4,08±0,94 <sup>c</sup>	0,050
BuChE, U/L	5470,7±1559,7 <sup>a,b</sup>	6945,6±1843,1 <sup>a,c</sup>	8143,5±1539,6 <sup>b,c</sup>	<0,001
IGF-1, ng/mL	157,01±87,46 <sup>b</sup>	232,04±94,07	309,15±156,09 <sup>b</sup>	<0,001
IGFBP-3, μg/mL	4,26±1,84 <sup>b</sup>	5,20±1,50	5,89±2,11 <sup>b</sup>	0,008
IL-6, pg/mL	11,60(2,30-16,90) <sup>b</sup>	5,16(2,00-13,92)	2,36(2,00-5,45) <sup>b</sup>	0,036

<sup>1</sup>Kontinualne varijable upoređivane su ANOVA-om (Tukey's post hoc test);

<sup>a</sup>Značajna razlika između I i II tercila;

<sup>b</sup>Značajna razlika između I i III tercila;

<sup>c</sup>Značajna razlika između II i III tercila

**Tabela 43. Laboratorijski parametri raspoređeni po tercilima koncentracije IL-6**

Tercili IL-6				
Parametar	I tercil (<2,89)	II tercil (2,89-10,57)	III tercil (>10,57)	P <sup>1</sup>
ApoAI, g/L	1,41±0,23 <sup>b</sup>	1,29±0,23	1,23±0,21 <sup>b</sup>	0,014
hsCRP, mg/L	2,27±1,93 <sup>b</sup>	5,49±6,24	17,39±32,11 <sup>b</sup>	0,013
Kreatinin, μmol/L	1044,7±204,3 <sup>b</sup>	960,1±197,1	866,9±222,8 <sup>b</sup>	0,011
MPO, pmol/L	100,23±51,78 <sup>a</sup>	254,18±285,05 <sup>a</sup>	203,70±121,49	0,019
SOD/Hgb, U/mg Hgb	1251,2±523,8 <sup>b</sup>	1524,7±565,9	1722,3±550,7 <sup>b</sup>	0,011
Prealbumin, g/L	0,34±0,06 <sup>b</sup>	0,31±0,07 <sup>c</sup>	0,24±0,08 <sup>b,c</sup>	<0,001
PAB, HK jedinice	13,50±10,89 <sup>b</sup>	24,85±18,03 <sup>c</sup>	48,65±26,44 <sup>b,c</sup>	<0,001
BuChE, U/L	7279,6±1830,2 <sup>b</sup>	7371,3±2008,3 <sup>c</sup>	5852,9±1702,8 <sup>b,c</sup>	0,006
IGFBP-3, μg/mL	5,36±1,78	5,78±2,13 <sup>c</sup>	4,39±1,89 <sup>c</sup>	0,034

<sup>1</sup>Kontinualne varijable upoređivane su ANOVA-om (Tukey's post hoc test);

<sup>a</sup>Značajna razlika između I i II tercila;

<sup>b</sup>Značajna razlika između I i III tercila;

<sup>c</sup>Značajna razlika između II i III tercila

**Tabela 44. Laboratorijski parametri raspoređeni po tercilima koncentracije PAB**

<b>Tercili PAB</b>				
<b>Parametar</b>	<b>I tercil (&lt; 14,76)</b>	<b>II tercil (14,76-35,26)</b>	<b>III tercil (&gt; 35,26)</b>	<b>P<sup>1</sup></b>
ApoAI, g/L	<b>1,45±0,29<sup>b</sup></b>	<b>1,39±0,16<sup>c</sup></b>	<b>1,19±0,18<sup>b,c</sup></b>	<b>0,002</b>
Kreatinin, µmol/L	1018,4±272,7	1065,3±134,6 <sup>c</sup>	880,2±190,8 <sup>c</sup>	<b>0,027</b>
Trig, mmol/L	1,24±0,52 <sup>b</sup>	1,99±0,70 <sup>c</sup>	1,25±0,46 <sup>b,c</sup>	<b>&lt;0,001</b>
HDL-C, mmol/L	<b>1,11±0,039<sup>a,b</sup></b>	<b>0,82±0,21<sup>a</sup></b>	<b>0,74±0,18<sup>b</sup></b>	<b>0,001</b>
SOD/Hgb, U/mg Hgb	<b>1346,6±471,0<sup>b</sup></b>	<b>1496,7±497,3</b>	<b>1885,2±597,6<sup>b</sup></b>	<b>0,01</b>
Prealbumin, g/L	<b>0,33±0,06<sup>b</sup></b>	<b>0,33±0,07<sup>c</sup></b>	<b>0,24±0,08<sup>b,c</sup></b>	<b>&lt;0,001</b>
TOS, µmol/L	25,67±14,62 <sup>a,b</sup>	58,26±20,13 <sup>a</sup>	57,36±22,15 <sup>b</sup>	<b>&lt;0,001</b>
BuChE, U/L	7399,4±2050,7 <sup>b</sup>	7456,5±1775,8 <sup>c</sup>	5567,7±1699,1 <sup>b,c</sup>	<b>0,004</b>
IL-6, pg/mL	<b>2,19(2,00-4,31)<sup>b</sup></b>	<b>3,03(2,00-7,45)<sup>c</sup></b>	<b>16,45(9,44-27,75)<sup>b,c</sup></b>	<b>0,007</b>
hsTnI, ng/L	<b>9,5(2,7-20,2)<sup>b</sup></b>	<b>21(7,7-37)</b>	<b>40,5(24,0-73,7)<sup>b</sup></b>	<b>&lt;0,001</b>

<sup>1</sup>Kontinualne varijable upoređivane su ANOVA-om (Tukey's post hoc test);

<sup>a</sup>Značajna razlika između I i II tercila;

<sup>b</sup>Značajna razlika između I i III tercila;

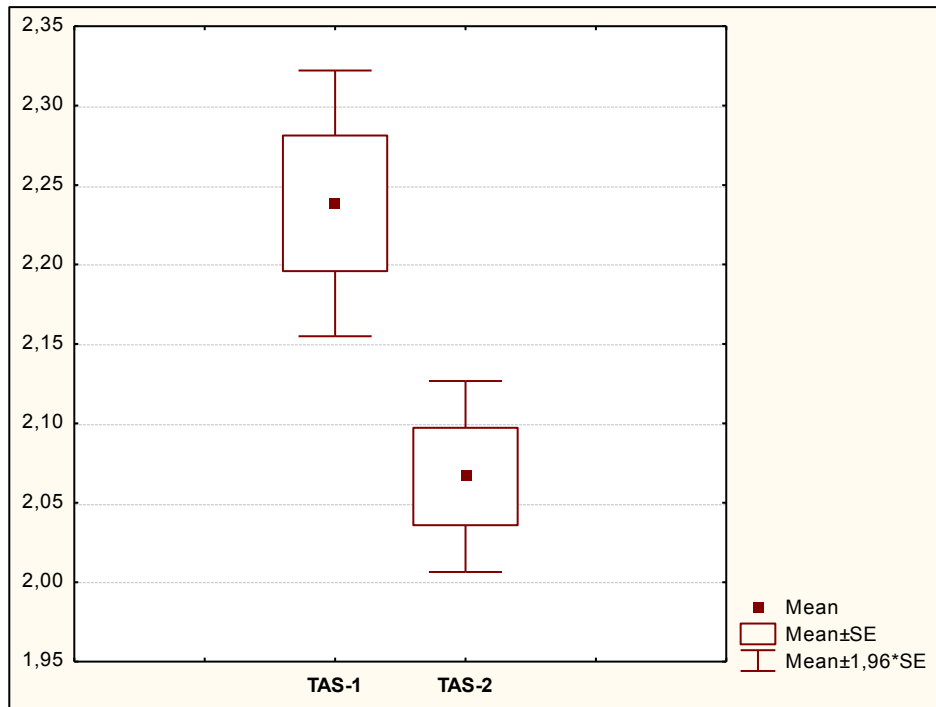
<sup>c</sup>Značajna razlika između II i III tercila

Na kraju smo testirali eventualnu statistički značajnu razliku kod 48 pacijenata kojima smo većinu ispitivanih parametara izmjerili dva puta, na početku istraživanja i nakon godinu dana. Rezultati su prikazani u tabelama 45 i 46.

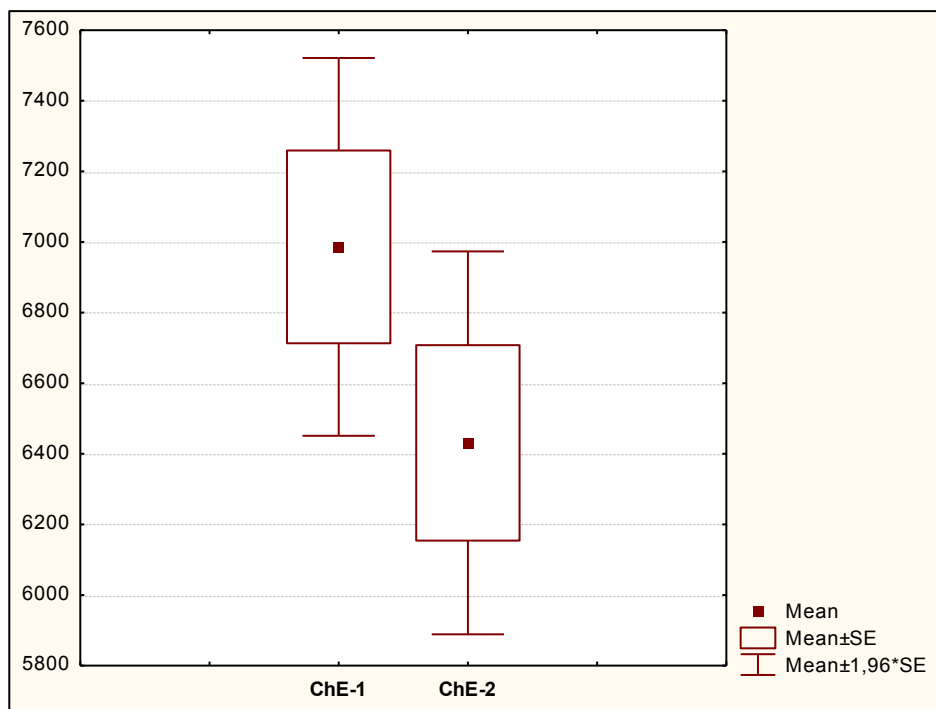
**Tabela 45. Testiranje statističke razlike između vrijednosti izmjerenih parametara na početku istraživanja i nakon godinu dana (t-test za zavisne uzorke)**

	Mean	Std.Dv.	Diff.	Std.Dv.	t	p
TAS-1	2,238	0,289				
TAS-2	2,067	0,208	0,172	0,296	3,940	<b>&lt;0,001</b>
SOD u eritrocitima-1	142,878	52,643				
SOD u eritrocitima-2	136,942	69,126	5,936	72,773	0,559	0,579
Uric pos-1	130,355	40,671				
Uric pos-2	122,551	41,349	7,804	31,791	1,683	0,099
BuChE-1	6986,170	1871,412				
BuChE-2	6430,979	1896,794	555,191	1488,488	2,557	<b>0,014</b>
hcCRP-1	4,838	5,969				
hcCRP-2	8,916	15,593	-4,078	13,354	-2,116	<b>0,040</b>
Rezistin-1	0,736	0,346				
Rezistin-2	0,701	0,196	0,035	0,321	0,755	0,454
Albumin-1	38,396	2,834				
Albumin-2	37,625	4,814	0,771	3,980	1,342	0,186
Prealbumin-1	0,314	0,064				
Prealbumin-2	0,316	0,082	0,000	0,063	0,035	0,973
RBP-1	0,141	0,033				
RBP-2	0,168	0,044	-0,027	0,039	-4,764	<b>&lt;0,001</b>
IGF-1-1	231,978	110,085				
IGF-1-2	240,370	139,652	-8,391	85,414	-0,666	0,509
IGFBP-3-1	5,149	1,687				
IGFBP-3-2	5,624	1,952	-0,475	1,574	-2,047	<b>0,047</b>
Transferin-1	2,030	0,437				
Transferin-2	2,051	0,436	-0,021	0,438	-0,339	0,736

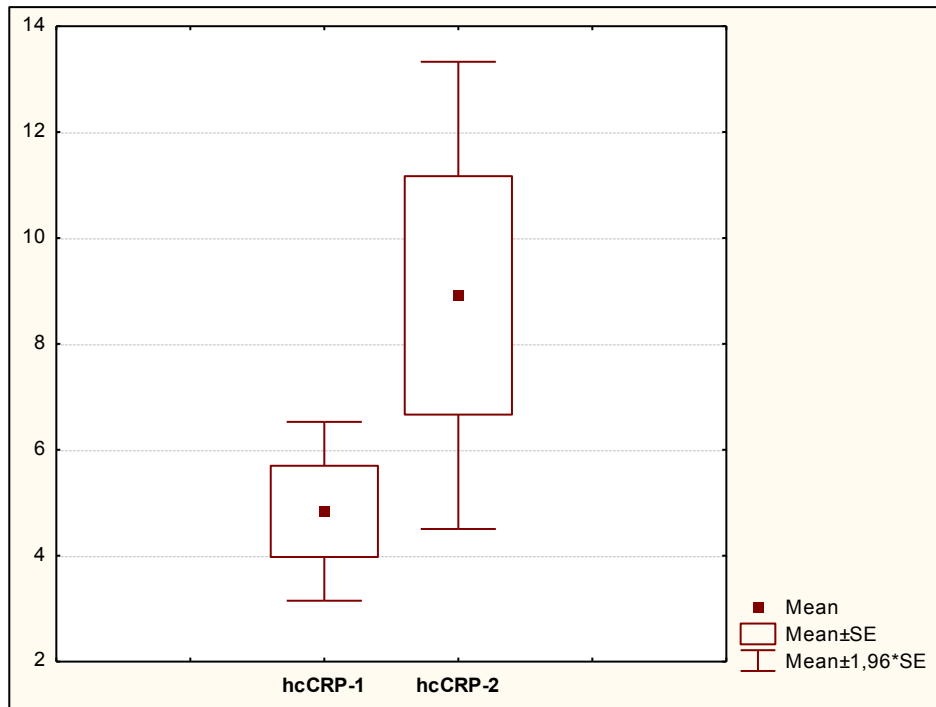
T-test za zavisne uzorke pokazuje da postoji statistički značajna razlika između vrijednosti izmjerenih na početku istraživanja i nakon godinu dana za parametre TAS, BuChE, hcCRP, RBP i IGFBP-3 ( $p < 0,05$ ). Na slikama 52–54 prikazani su *box plot* dijagrami sa promjenama koncentracije TAS, BuChE i hsCRP.



*Slika 52. Box plot promjena koncentracije TAS za 1 godinu*



*Slika 53. Box plot promjena koncentracije BuChE za 1 godinu*



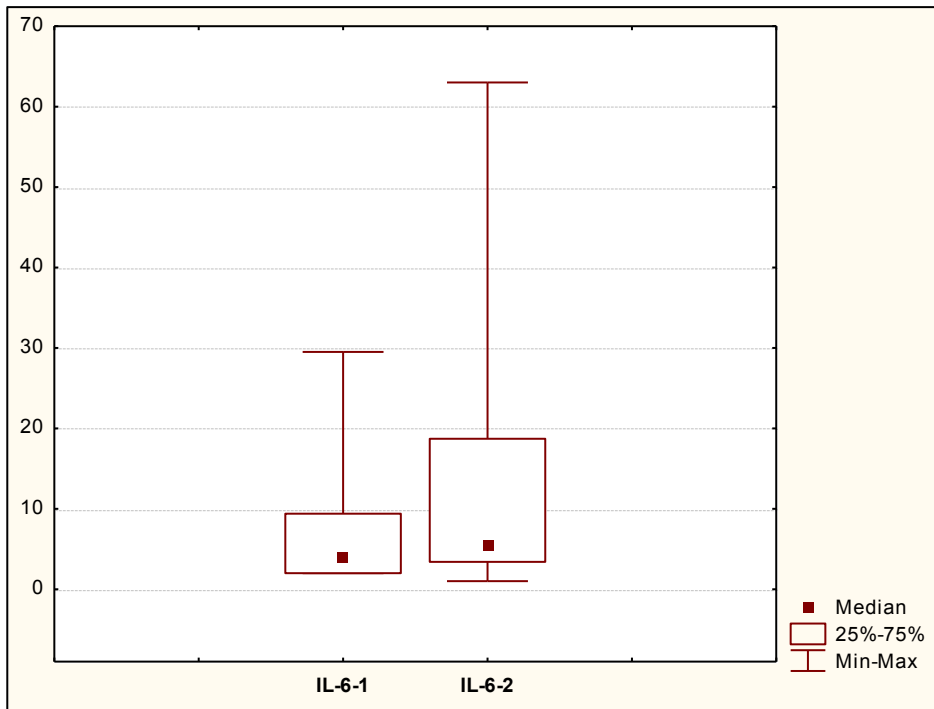
**Slika 54. Box plot promjena koncentracije hsCRP za 1 godinu**

*Wilcoxon Matched Pairs Test* pokazuje da postoji statistički značajna razlika između vrijednosti mjerenih na početku istraživanja i nakon godinu dana za parametar IL-6 ( $p < 0,05$ ) (tabela 46).

**Tabela 46. Testiranje statističke razlike između vrijednosti izmjerenih parametara na početku istraživanja i nakon godinu dana (*Wilcoxon-ov test parova*)**

	<b>T</b>	<b>Z</b>	<b>p</b>
<b>IL-6-1 i IL-6-2</b>	333,500	2,262	<b>0,024</b>

Na slici 55 prikazan je box plot dijagram promjena IL-6.



*Slika 55. Box plot promjena koncentracije IL-6 za 1 godinu*



## 5. DISKUSIJA

RRT, odnosno dijalizna terapija (hemodijaliza ili peritonealna dijaliza) produžavaju život pacijentima sa HRI, ali i pored decenija korišćenja ovih tretmana još uvijek ima dosta nepoznanica u vezi specifičnih, isprepletenih patofizioloških procesa, zastupljenih u ovoj grupi pacijenata, koji se ne mogu objasniti patofiziološkim mehanizmima razvijenim za opštu populaciju. Pored objašnjavanja samih patofizioloških mehanizama, konstantni interes naučne i stručne javnosti su i eventualne preventivne aktivnosti ili tretmani, a sve u cilju sprečavanja i/ili odlaganja neželjenih ishoda kod ovih pacijenata.

U ovoj studiji proučavani su biomarkeri inflamatornog i nutritivnog statusa, kao i markeri oksidativnog stresa/antioksidativne zaštite i hsTnI kod pacijenata na HD tretmanu. Kako je sama HRI faktor rizika za razvoj KVB, ove biomarkere smo evaluirali u kontekstu njihove veze sa tradicionalnim i naučno prihvaćenim faktorima rizika za razvoj KVB. Pored toga, procijenjivali smo međusobne veze ovih biomarkera, njihovu longitudinalnu promjenu u razmaku od jedne godine, kao i značajnost svih parametara u predikciji mortaliteta, kako ukupnog, tj. opšteg, tako i mortaliteta uslovljenog KVB.

Nivoi biomarkera određeni su na početku studije. Ukupno 79 pacijenata (39 muškaraca i 40 žena) životne dobi  $57,6 \pm 10,4$  godina praćeno je u periodu od dvije godine. Ishod od interesa u ovoj studiji bio je mortalitet (opšti i KVB). Nakon dvije godine umrlo je ukupno 28 pacijenata (35,4%), dok je 11 pacijenata (13,9%) umrlo usled neke KVB (tabela 6).

Uzrok nastanka HRI je u 29,1% slučajeva bila arterijska hipertenzija. Autozomno dominantna policistična bolest bubrega je bila primarna bolest kod 17,8% pacijenata, a diabetes mellitus je doveo do HRI u 12,8% slučajeva. Pacijenti su grupisani u dvije grupe na osnovu primarne bolesti. U grupi "KVB rizik" (primarno oboljenje: arterijska hipertenzija, diabetes mellitus i pANCA vaskulitis) bilo je 35 pacijenata (44,3%), dok su u grupi koju smo nazvali "Ostalo" bila 42 pacijenta (53,2%). Pacijentima u grupi "Ostalo" primarna bolest nije bila faktor rizika za razvoj KVB.

BMI, obim struka, obim opseg kuka i sistolni pritisak prije i nakon HD tretmana značajno su bili viši kod pacijenata u grupi KVB rizik. Dijastolni KP nakon dijalize, URR i mokraćna kiselina nakon dijalize razlikovali su se između grupa na nivou značajnosti 90%, tj.  $p < 0,10$  (tabela 7–8, slika 11–22).

Određivanje BMI je najjednostavniji metod za definisanje prekomjerne tjelesne mase i/ili pretilnosti. Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) pod normalnom tjelesnom masom smatra osobe sa BMI  $18,5$ – $24,9$   $\text{kg/m}^2$ , prekomjerna masa je definisana kao BMI  $25$ – $29,9$   $\text{kg/m}^2$ , a BMI preko  $30$   $\text{kg/m}^2$  se smatra gojaznošću [236]. U našoj studiji 54,4 % (49) pacijenata je imalo normalnu tjelesnu masu, 7,6 % je bilo pothranjeno, 27,9% pacijenata je imalo BMI  $\geq 25$ , a 10,1% je bilo gojazno. BMI u grupi Ostalo je bio  $23,24 \pm 3,89$   $\text{kg/m}^2$ , dok je u KVB grupi bio  $25,38 \pm 4,49$   $\text{kg/m}^2$ . BMI se koristi u brojnim vodičima o nutriciji upravo zbog toga što ga je lako izračunati, ali ovaj biomarker nije poželjno koristiti u procjeni distribucije masnog tkiva, naročito kod HRI [237]. BMI ne uzima u obzir građu pojedinca, te je za dobijanje jasnije slike uhranjenosti pojedinca potrebno uključiti dodatne parametre: konstituciju tijela, udio masnog tkiva i udio mišićne mase [238].

Antropometrijska mjerenja, kao što su: mjerenje debljine kožnih nabora kaliperom radi određivanja procenta masnog tkiva, mjerenje obim struka i/ili kuka i njihovog odnosa, jednostavne su i brze metode koje se mogu primijeniti kod renalnih bolesnika. U brojnim studijama presjeka odnos obima struka i obima kuka kao i debljina kožnog nabora pokazali su se značajno boljim parametrima u odnosu na BMI za odgovarajuću klasifikaciju gojaznosti kod pacijenata sa HRI [239]. Rizik od nastanka KVB povećava se sa povećanjem obima struka i povećanjem odnosa obima struka i obima kukova. Rizični opsezi su >102 cm za obim struka i >0,9 odnos obima struka i kukova za muškarce i >88 cm obim struka i >0,8 cm odnos obima struka i kukova za žene [108]. Međutim, neki autori smatraju da za procjenu promjene visceralne masti u toku vremena odnos obima struka i kukova ne može biti adekvatan pokazatelj [240]. Danas postoje sofisticiranije metode za procjenu tjelesnog sastava kao što su bioimpedanca, DEXA (eng. *Dual-Energy X-ray Absorptiometry*), magnetna rezonanca itd., no one su skupe i zahtijevaju uvježban kadar [238], dok mjerenje masnoće ovim metodama nema prednosti u odnosu na jednostavnija antropometrijska mjerenja [241]. Odnos obima struka i obima kukova, kao i debljina kožnog nabora se preporučuju za rutinsku upotrebu [239]. Indeks koničnosti je još jedan jednostavan parametar dobijen matematičkim putem iz obima struka, tjelesne težine i tjelesne visine, koji može biti koristan za procjenu akumulacije abdominalne masti. Ovaj metod se u nekim studijama pokazao dobrim za identifikaciju pacijenata koji imaju HRI i abdominalnu, tj. visceralnu gojaznost, a ne moraju imati prekomjernu tjelesnu težinu, a takođe je koristan kao faktor rizika za procjenu PEG [15, 242].

U našoj studiji je 71,4% muškaraca i 47,6% žena imalo preporučeni obim struka, ali je samo 4,8% muškaraca i 4,8% žena imalo odnos obima struka i obima kukova ispod 0,9 odnosno 0,8 respektivno. Srednja vrijednost obima struka u grupi Ostalo bila je  $81,686 \pm 10,561$  cm, a u KVB rizik grupi  $92,100 \pm 13,753$  cm, dok je srednja vrijednost obima kukova u grupi Ostalo bila  $87,143 \pm 12,579$  cm, a u grupi KVB rizik  $96,050 \pm 15,679$  cm.

Distribucija masti (abdominalna, tj. visceralna, nasuprot perifernoj masti) ima različite metaboličke efekte. Kod pacijenata sa HRI abdominalna masnoća je povezana sa inflamacijom [243], insulinskom rezistencijom [244], hiperadipokinemijom [245], dislipidemijom [246] i oksidativnim stresom [247], što sve može dovesti do PEG. Neki istraživači su mišljenja da se umjereno povećan BMI kod pacijenata sa HRI može interpretirati kao znak boljeg nutritivnog statusa, dok su prekomjerni depoziti masti u abdominalnoj regiji štetni zbog njihove uloge u metaboličkom disbalansu [248–250]. Sharma i saradnici su u svojoj studiji dokazali da BMI pogrešno klasifikuje gojazne pacijente sa HRI kao pacijente sa normalnom tjelesnom težinom, što se može objasniti gubitkom mišićne mase koji je kod pacijenata koji su na HD tretmanu čest i integralna je komponenta PEG. Sarkopenijska gojaznost ima veću prevalencu kod pacijenata sa HRI, a u studiji Sharma i saradnika 30% pacijenata više je klasifikovano kao gojazno koristeći DEXA metod u odnosu na BMI [251]. U studiji Evansa i saradnika pokazano je da antropometrijska mjerenja koja uključuju procjenu centralne distribucije masti (odnos obima struka i kukova, odnos obima struka i visine, indeks koničnosti) bolje koreliraju u odnosu na BMI sa razvojem KVB kod pacijenata u stadijumu 3 HRI [252]. Naša studija takođe je dokazala da je u procjeni rizika od nastanka KVB kod pacijenata na HD tretmanu pored BMI neophodno koristiti i druge antropometrijske mjere.

U grupi pacijenata KVB rizik nije bilo statistički značajne povezanosti između svih ispitivanih laboratorijskih parametara i pola ispitanika i njihovih pušačkih navika kao tradicionalnih faktora rizika za razvoj KVB (tabela 9–12).

Korelaciona analiza svih posmatranih laboratorijskih parametara sa svim priznatim faktorima rizika za nastanak KVB (holesterol, trigliceridi HDL-holesterol, LDL-holesterol, ApoAI, ApoB, homocistein, BMI, hsTnI, starost, debljina kožnog nabora, obima nadlaktice, struka i kukova i MIS *score*) pokazala je pozitivnu korelaciju TOS i MDA sa homocisteinom, zatim korelaciju koncentracije mokraćne kiseline nakon dijalize, hsCRP, IL-6, albumina sa koncentracijom holesterola i LDL-holesterola. Prealbumin i IGF-1 su korelirali sa LDL-holesterolom, a prealbumin i RBP sa ApoB. Prealbumin je imao pozitivnu korelaciju sa BMI. MPO je korelirao sa hsTnI i MIS *score*-om, dok je rezistin u korelaciji bio jedino sa MIS *score*-om (tabela 13–14).

Cox regresiona hazard analiza pokazala je da nivoi biohemijskih parametara – hsCRP, IL-6, PAB, hsTnI ( $p < 0,001$ ), mokraćna kiselina nakon HD, BuChE, albumin, RBP, IGF-1 ( $p < 0,05$ ) imaju statistički značajan uticaj na opšti mortalitet (tabela 16). Statistički značajan uticaj na mortalitet uzrokovan KVB pokazali su: mokraćna kiselina nakon HD, IL-6, prealbumin RBP i hsTnI ( $p < 0,05$ ). Biohemijski parametri BuChE i hcCRP imali su statistički granično značajan uticaj ( $p \approx 0,05$ ) (tabela 28).

hsCRP, IL-6 i adipokin - rezistin su bili inflamatorni parametri koje smo uključili u studiju i proučavali njihovu potencijalnu prediktivnu sposobnost za mortalitet u našoj ispitivanoj populaciji. hsCRP i IL-6 bili su statistički značajno niži kod preživjelih pacijenata u odnosu na obje grupe umrlih pacijenata (opšti mortalitet, KVB mortalitet) (tabela 15), dok rezistin nije pokazao statistički značajnu razliku između grupa.

Rezistin je uključen u našu studiju zbog njegove povezanosti sa vaskularnim patofiziološkim procesima, kao i zbog učešća u razvoju inflamatornih procesa. Međutim, naši su rezultati pokazali samo statistički značajnu korelaciju između rezistina i MIS *score*-a (tabela 14). Rezistin je dokazan prediktor mortaliteta kod pacijenata sa koronarnim bolestima i diabetes mellitusom [253, 254], ali nismo uspjeli dokazati njegov značaj kao prognostičkog markera za mortalitet kod pacijenata na HD.

U našoj je studiji više od polovine pacijenata (55,1%) imalo koncentraciju hsCRP > 3 mg/L, a 41,0% pacijenata imalo je koncentraciju hsCRP > 5 mg/L. Koncentracija CRP iznad 5 mg/L ukazuje na neki inflamatorni proces u organizmu i u našoj je laboratoriji to koncentracija koju smatramo *cut-off* vrijednošću za infekciju. U grupi preživjelih pacijenata srednja vrijednost hsCRP bila je  $3,2 \pm 2,6$  mg/L što je više od preporučenog *cut-off*-a za rizik od nastanka KVB, ali niže od korišćene *cut-off* vrijednosti za infekciju. Sa druge strane medijana IL-6 vrijednosti kod preživjelih pacijenata bile su  $2,43$  pg/mL (2,00–5,17), dok je referentni *cut-off*  $3,4$  pg/mL. Cox regresiona hazard analiza u našoj populaciji je pokazala da je hsCRP snažan prediktor opšteg mortaliteta kod pacijenata na HD tretmanu, što je u korelaciji sa brojnim drugim studijama u kojima je procjenjivana značajnost ovog biomarkera na većem broju pacijenata na HD [255, 256].

Zoccali i saradnici su u studiji u kojoj su određivane koncentracije CRP i citokina: IL-1, IL-6, IL-18 i TNF- $\alpha$  kod pacijenata sa HRI dokazali da je IL-6 najsnažniji prognostički marker za mortalitet [257]. Ovi autori su smatrali da je IL-6 gotovo idealan indikator inflamatornog procesa kod pacijenata sa HRI. Njihova preporuka bila je da se ovaj

biomarker što više istražuje kako bi bolje razumjeli sami inflamatorni proces kod pacijenata sa ESRD i samim tim otkrili način na koji se on može modifikovati.

U našoj studiji Cox regresijom hsCRP i IL-6 su se pokazali kao biomarkeri sa približno istim i izrazito snažnim značajem za predikciju opšteg mortaliteta ( $p < 0,001$ ). Kaplan-Meierova analiza pokazala je statistički značajnu razliku između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti hsCRP (5 mg/L) i IL-6 (3,4 pg/mL) ( $p = 0,0001$ ) (tabela 17), a kombinacija ova dva parametra (tabela 27) u Kaplan-Meierovoj analizi pokazala je veću prediktivnu sposobnost za mortalitet u odnosu na korišćenje pojedinačnih biomarkera ( $p < 0,001$ ). Za razliku od opšteg mortaliteta, u našoj je studiji cox regresijom dokazano da IL-6 ( $p = 0,009$ ) za predikciju mortaliteta uslovljenog KVB ima veću statističku značajnost od hsCRP ( $p = 0,054$ ) (tabela 28). Kaplan-Meierova analiza za *cut-off* vrijednost IL-6 istu kao i u opštem mortalitetu (3,4 pg/mL), i hsCRP od 3 mg/L takođe je pokazala veću statističku značajnost IL-6 ( $p = 0,003$ ) od hsCRP ( $p = 0,037$ ) (tabela 29). Nijedan pacijent u grupi u kojoj je bazalna koncentracija hsCRP bila  $< 3$  mg/L i IL-6  $< 3,4$  pg/mL nije umro usled KVB.

Panichi i saradnici su u svojoj studiji takođe dokazali prednost IL-6 u odnosu na CRP kao prognostičkog markera za mortalitet i predstavili su više hipoteza koje objašnjavaju tu prednost. Jedna od njih je da je IL-6, budući lociran ushodno u inflamatornoj kaskadi koja dovodi do sinteze brojnih reaktanata akutne faze, bolji marker inflamatornog procesa. Druga hipoteza vezana je za izuzetno niske koncentracije IL-6 koje mogu tačnije klasifikovati pacijente u riziku od inflamacije [258], dok neki autori smatraju da su efekti IL-6 na srce i periferne krvne sudove toksičniji od efekata CRP [259]. Kako je IL-6 u našoj studiji bio značajno bolji prediktor KVB mortaliteta u odnosu na CRP, a prediktivna moć za opšti mortalitet je za oba biomarkera bila gotovo identična, naši rezultati idu u prilog hipotezi da IL-6 ima toksičnije dejstvo na kardiovaskularni sistem u odnosu na CRP.

Kontrolom ćelijske proliferacije i diferencijacije, zatim preživljavanja i smrti ćelije, kao i citokin specifične ekspresije gena, citokini imaju centralnu ulogu u patofiziološkim putevima uključenim u razvoj infekcije, traume, inflamacije kao i u nastanku karcinoma. Komunikacija između imunih ćelija i stromalnih nehematopoetskih ćelija posredovana citokinima predstavlja dio procesa zaliječenja. Međutim, tokom hronične inflamacije gubi se specifična regulacija imunog odgovora što dovodi do progresije bolesti. U toj situaciji citokini dovode do razvoja autoimunih reakcija, hronične inflamacije i ozbiljnih oštećenja tkiva [260], što je uslovalo razvoj terapijskih agenasa kojima je cilj sprečavanje brze progresije oboljenja djelovanjem na specifične citokine [261]. IL-6 ima centralnu ulogu u citokinskoj mreži i zbog toga je prepoznat kao cilj brojnih terapijskih intervencija koje su usmjerene direktno na molekul IL-6 ili na  $\alpha$  subjedinicu IL-6 receptora [262]. Kako ovaj citokin doprinosi progresiji renalnih oboljenja i pojavi velikog broja komplikacija koje se javljaju usled primarne renalne bolesti (vaskularna kalcifikacija, PEG, umor, rizik od razvoja KVB), potencijalna primjena anti-citokinske terapije je zainteresovala istraživače [263]. Biološki agensi, antagonisti djelovanja IL-6, su izuzetno efikasni u autoimunim bolestima, npr. reumatoidnom artritisu. Tocilizumab, antagonist receptora za IL-6, je kod nekih pacijenata sa renalnim komplikacijama kao komorbiditetom reumatoloških bolesti, pokazao poboljšanje renalne funkcije pacijenata – sediment urina je bio značajno bolji, smanjen je nivo proteinurije i stabilizovana je renalna funkcija [264–266]. Međutim, i dalje nedostaju i neophodne su randomizovane kontrolne studije radi potvrde

potencijalnog benefita anti-IL-6 terapijskih intervencija kod pacijenata sa renalnim oboljenjima.

U ovoj studiji smo evaluirali potencijalnu sposobnost za predikciju mortaliteta kod pacijenata na HD za šest biomarkera oksidativnog stresa ili antioksidativne zaštite: TAS, TOS, MDA, SOD u eritrocitima, PAB i MPO. Bez obzira na sva teorijska saznanja o ulozi oksidativnog stresa u renalnoj disfunkciji i progresiji renalnih bolesti, njegov značaj je često zanemaren u kliničkoj praksi. Međutim, sve je više studija koje dokazuju i objašnjavaju izuzetno jaku korelaciju oksidativnog stresa sa morbiditetom i mortalitetom uzrokovanim KVB kod pacijenata sa HRI [267]. Statistički značajnu razliku između grupe preživjelih pacijenata, kao i svih umrlih pacijenata i pacijenata umrlih usled KVB, pokazali su samo PAB ( $p < 0,001$ ) i MPO ( $p < 0,05$ ) (tabela 15). Oba biomarkera bila su značajno niža u grupi preživjelih pacijenata u odnosu na obje grupe preminulih pacijenata.

MPO je u našoj studiji pokazala statistički značajnu pozitivnu korelaciju sa MIS *score*-om i koncentracijom hsTnI (tabela 13–14). MPO je, pored biomarkera oksidativnog stresa, takođe i inflamatorni marker, što donekle objašnjava korelaciju sa MIS *score*-om. Najnižu aktivnost MPO ( $100,23 \pm 51,78$  pmol/L) imala je u prvom najnižem tercilu IL-6 ( $< 2,89$  pg/mL) (tabela 43). Oba rezultata su u saglasju sa svim ostalim rezultatima ove studije koji govore da se oksidativni stres ne može posmatrati odvojeno od inflamacije i malnutricije. Aktivnost ovog enzima nije pokazala statistički značajnu prediktivnu sposobnost za mortalitet u našoj studiji.

Nivoi TAS bili su niži u grupi opšteg i KVB mortaliteta, ali nije bilo statistički značajne razlike između preživjelih i umrlih pacijenata. Jedan od razloga smanjenog antioksidativnog kapaciteta kod ovih pacijenata je gubitak antioksidanasa dijaliznim procesom [268]. TOS je bio viši u obje grupe umrlih pacijenata, ali nije pronađena statistički značajna razlika između grupa. TOS i MDA statistički su značajno pozitivno korelirali sa homocisteinom, faktorom rizika za razvoj KVB (tabela 13), ali se u našoj studiji nisu dokazali kao prediktori mortaliteta.

Cox regresiona hazard analiza je pokazala da je od svih ispitivanih parametara samo PAB pokazao značajnu prediktivnu moć za mortalitet, i to kako opšti ( $p < 0,001$ ) (tabela 16) tako i KVB mortalitet ( $p = 0,002$ ) (tabela 28). Kaplan-Meierova analiza i log-rank test pokazali su da postoji statistički značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti laboratorijskih parametara u odnosu na opšti mortalitet i to za TOS na nivou značajnosti od 90% ( $p < 0,10$ ), a za PAB na nivou značajnosti od 95% ( $p < 0,05$ ) (tabela 17). Log-rank test pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti za TOS u odnosu na KVB mortalitet ( $p > 0,05$ ), a postoji statistički značajna razlika za PAB na nivou značajnosti od 90% ( $p < 0,10$ ) (tabela 29).

Serumski nivoi SOD pokazali su se kao dobar prognostički marker za mortalitet [269], ali u ovoj studiji nismo uspjeli povezati aktivnost ovog enzima u eritrocitima sa mortalitetom. Ipak, analiza raspodjele koncentracija ispitivanih laboratorijskih parametara po tercilima biomarkera koji su u našoj studiji pokazali najveću prediktivnu sposobnost za mortalitet pokazala je da su vrijednosti SOD po gramu hemoglobina (SOD/Hgb) najveće u prvom, najnižem tercilu prealbumina ( $< 0,27$  g/L), rastu po tercilima IL-6 i po tercilima PAB (tabela 42–44), što je još jedan pokazatelj relacije nutritivnih, oksidativnih i inflamatornih biomarkera. TOS nije pokazao statistički

značajnu prediktivnu sposobnost za mortalitet, ali najniže koncentracije TOS je imao upravo u prvom, najnižem tercilu PAB (tabela 44).

U našoj studiji PAB se pokazao kao najbolji marker povećanog oksidativnog stresa kod pacijenata na hemodijalizi. PAB može simultano mjeriti stvaranje prooksidanasa i antioksidativni kapacitet i na taj način se preko ovog testa može procijeniti redoks indeks uzorka [270]. Za evaluaciju oksidativnog stresa danas se, uglavnom u istraživačke svrhe, koriste brojni markeri. Veliki broj oksidativnih biomarkera je u različitim studijama davao kontradiktorne rezultate, a još uvijek ne postoje standardizovane analitičke metode za određivanje njihove koncentracije. Oksidativni stres je izuzetno teško mjeriti i pratiti, što zbog metodoloških nesavršenosti, što zbog nemogućnosti izbora jednog ili malog broja savršenih markera – “zlatnog standarda”. U našoj studiji dokazali smo ogroman potencijal PAB u evaluaciji oksidativnog stresa – antioksidativne protekcije i u predikciji mortaliteta kod pacijenata na redovnom HD tretmanu.

Redukcija oksidativnog stresa dovodi do poboljšanja renalne funkcije kod pacijenata sa HRI, smanjenja inflamacije i snižavanja rizika za nastanak KVB [271, 272]. U brojnim studijama opisan je veliki broj mogućih farmakoloških tretmana koji za cilj imaju smanjivanje oksidativnog stresa kod pacijenata sa renalnim bolestima, npr.: korišćenje biokompatibilnih membrana, uzimanje antioksidanasa i drugih supstanci koje indirektno utiču na oksidativni stres [273]. Dijalizne membrane obložene antioksidansima, npr. vitaminom E, i modifikovane celulozne membrane povoljno utiču na disfunkciju endotela kod pacijenata na HD tretmanu i smanjuju produkciju slobodnih radikala [267, 274]. Omega-3 nezasićene masne kiseline, N-acetil cistein, koenzim Q10, antioksidansi koji “targetuju” mitohondrije (npr. derivati endogenog koenzima Q10 ili vitamin E) i karnitin imaju obećavajući potencijal u terapeutskom pristupu za regulisanje oksidativnog stresa kod pacijenata na HD tretmanu. Međutim, za pacijente bi, najvjerovatnije, najveću korist imala multifarmakološka terapija koja utiče na veći broj puteva koji mogu biti modifikovani oksidativnim stresom [272].

Kao biomarker oksidativnog stresa u našoj smo studiji pratili nivoe mokraćne kiseline nakon HD tretmana. Na taj način izbjegli smo uticaj renalne funkcije i značaj smanjene ekskrecije azotnih jedinjenja putem bubrega na koncentraciju ovog biomarkera i na njegovu potencijalnu prediktivnu sposobnost za mortalitet u ispitivanoj populaciji. Mokraćna kiselina se u brojnim studijama do sada pokazala kao značajan prediktor razvoja HRI i faktor rizika za razvoj KVB [275]. Koncentracije mokraćne kiseline u našoj ispitivanoj populaciji bile su niže kod pacijenata u grupi Ostalo nego kod onih u grupi KVB rizik, ali na nivou značajnosti od 90% ( $p < 0,1$ ), što možemo pripisati malom broju ispitanika (tabela 7). Mokraćna kiselina je takođe značajno pozitivno korelirala sa holesterolom i LDL-holesterolom, čije se povećane koncentracije ubrajaju u tradicionalne faktore rizika za razvoj KVB (tabela 13). Koncentracije ovog biomarkera bile su značajno niže u grupi preživjelih pacijenata u odnosu na opšti ( $p = 0,018$ ) i KVB mortalitet ( $p = 0,013$ ) (tabela 15), a cox regresiona hazard analiza je pokazala da je mokraćna kiselina odličan prediktor mortaliteta, kako opšteg ( $p = 0,006$ ) (tabela 16) tako i mortaliteta uzrokovanog KVB ( $p = 0,016$ ) (tabela 28). Log-rank test i Kaplan Meierove krive preživljavanja pokazale su statistički značajnu razliku između grupa definisanih *cut-off* vrijednostima mokraćne kiseline za opšti ( $p = 0,0004$ ) i KVB mortalitet ( $p = 0,003$ ) (tabele 17, 29).

Mokraćna kiselina ima antioksidativnu ulogu ali, paradoksalno, u aterosklerotskoj prooksidantnoj sredini ta uloga postaje prooksidativna i doprinosi oksidaciji lipoproteina u aterosklerotskom plaku. U takvoj sredini postoji antioksidantno-prooksidantni uratni redoks šatl. Hayden i Tyag su postojanje ovog šatla vezali najviše za aterosklerotsku intimu velikih krvnih sudova i subendotel kapilara, a njegovim postojanjem objasnili su povezanost visokih nivoa mokraćne kiseline sa oštećenjem kapilara, pojačanom aterosklerozom i većim rizikom za mortalitet usled KVB [276]. Kurt Lee i saradnici su utvrdili da postoji korelacija između niskih koncentracija mokraćne kiseline u serumu i mortaliteta kod pacijenata na hemodijaliznoj terapiji [277]. Hsu i saradnici su sa druge strane dokazali J-oblik korelacije između serumskih nivoa mokraćne kiseline i mortaliteta kod pacijenata na HD tretmanu [278]. Mi nismo uspjeli dokazati J-oblik korelacije između koncentracija mokraćne kiseline i mortaliteta. Pored toga što se mokraćna kiselina povezuje sa oksidativnim stresom i smatra se biomarkerom oksidativnih procesa kod pacijenata na HD tretmanu, koncentracija ovog markera se po prospektivnim opservacionim studijama nekih autora može smatrati i nutritivnim biomarkerom [279]. Prekomjerna produkcija mokraćne kiseline je povezana sa akumulacijom visceralnih masnoća [280], samim tim i razvojem metaboličkog sindroma čija je prevalenca u ESRD populaciji visoka [281]. U prilog toj teoriji govore i rezultati naše studije i analiza raspodjele nivoa posmatranih parametara po tercilima mokraćne kiseline koja je pokazala da se BMI povećava po tercilima koncentracije mokraćne kiseline. Najveći BMI je bio u tercilu najvećih koncentracija mokraćne kiseline nakon HD tretmana ( $>153 \mu\text{mol/L}$ ) (tabela 41). Za razliku od BMI, koncentracije holesterola, HDL-holesterola i LDL-holesterola smanjivale su se po tercilima mokraćne kiseline, dok je koncentracija hsCRP je rasla po tercilima ovog markera. Kombinacija mokraćne kiseline sa inflamatornim markerima hsCRP i IL-6 pokazala je u Kaplan-Meierovoj analizi bolju prediktivnu sposobnost za opšti i KVB mortalitet u odnosu na ove biomarkere pojedinačno ( $p<0,001$ ) (tabele 27, 39). Koncentracije mokraćne kiseline nakon HD tretmana i hsTnI takođe su mnogo bolji prediktori opšteg i KVB mortaliteta od ova dva biomarkera pojedinačno ( $p<0,001$ ).

Koncentracija LDL-holesterola bila je statistički značajno veća kod preživjelih pacijenata u odnosu na sve umrle pacijente ( $p=0,018$ ) (tabela 15). Ovakav rezultat može se djelimično objasniti reverznom epidemiologijom kod pacijenata na HD tretmanu. Neke studije su sugerisale da nije samo hiperholesterolemija, već i LDL hiperholesterolemija paradoksalno povezana sa boljim preživljavanjem kod ovih pacijenata [282]. Preporučeni nivoi LDL-holesterola kod pacijenata sa HRI, zbog velikog rizika za razvoj KVB u ovoj populaciji pacijenata, su izuzetno niski ( $<1,8 \text{ mmol/L}$ ) [283]. U našoj studiji samo je 13,2% svih pacijenata imalo preporučene nivoe LDL-holesterola.

PEG je česta komplikacija kod pacijenata na HD tretmanu. Međutim, još uvijek ne postoji jednostavan i klinički prihvatljiv metod za procjenu nutritivnog statusa kod ovih pacijenata. Dijagnoza PEG se postavlja na osnovu brojnih biohemijskih, kliničkih i antropometrijskih kriterijuma. U ovoj studiji procjenjivali smo značaj nutritivnih parametara u predikciji mortaliteta kod pacijenata na HD: albumina, prealbumina, RBP i IGF-1 sa IGFBP-3. U studiju smo kao parametre nutritivnog statusa uključili još transferin i BuChE.

Nivoi RBP, BuChE i prealbumina statistički se značajno razlikuju između živih pacijenata i obje grupe umrlih pacijenata (tabela 15) ( $p<0,05$ ). Koncentracije albumina i IGF-1 statistički su značajno više kod živih pacijenata u odnosu na ukupan broj umrlih

pacijenata ( $p < 0,05$ ), dok u grupama preživjelih pacijenata i umrlih usled KVB ne postoji značajna razlika između koncentracija ovih parametara. Cox regresijom su se kao značajni prediktori opšteg mortaliteta nakon dvije godine kod pacijenata na HD pokazali: prealbumin ( $p < 0,001$ ), albumin, RBP, IGF-1 i BuChE ( $p < 0,05$ ). Transferin i IGFBP-3 nisu pokazali značajnost u predikciji mortaliteta (tabela 16). Značajni prediktori KVB mortaliteta bili su prealbumin i RBP ( $p < 0,05$ ) (tabela 17).

Rezultati dosadašnjih studija pokazali su da su albumin i prealbumin dokazani prediktori mortaliteta u ovoj grupi pacijenata. Brojne epidemiološke studije su dokazale statistički značajnu povezanost između albumina u serumu i opšteg i KVB mortaliteta kod pacijenata na HD tretmanu [284]. Kaysen i saradnici [284] su promjene u serumskim nivoima albumina objasnili uticajem inflamacije na pojačan katabolizam albumina i nutritivnog statusa na sintezu albumina. Kalantar-Zadeh i saradnici su smatrali da se albumin ne može smatrati samo prostim surogat markerom za malnutriciju i inflamaciju. Oni su svakog mjeseca tokom šest mjeseci pratili koncentracije serumskog albumina, te je progresivni rast koncentracije serumskog albumina kod pacijenata korelirao sa njihovim boljim ishodom [285]. U nekim studijama prezentovana je potencijalna sposobnost albumina da, isto kao i lipoprotein, vezuje endotoksine i na taj način smanji kaskadnu aktivaciju citokina u toku inflamacije koja je samim tim intenzivnija kod pacijenata sa hipoalbuminemijom [286, 287].

Odnos CRP i prealbumina se pokazao kao izuzetno značajan prediktor mortaliteta kod pacijenata sa akutnom renalnom insuficijencijom [288]. Poluživot prealbumina u serumu je samo 2–3 dana što je značajno kraće od poluživota albumina (15–20 dana) [289]. Zbog te činjenice brojni autori smatraju da prealbumin može biti senzitivniji indikator nutritivnog statusa od albumina ili transferina [290–292]. U studiji Rambod i saradnika prealbumin se u odnosu na albumin nije pokazao superiornijim prediktorom mortaliteta kod pacijenata na HD, ali je ipak kod pacijenata sa normalnom koncentracijom albumina nizak prealbumin povećavao rizik od smrti. Značajniji pad koncentracije prealbumina tokom šest mjeseci ( $> 0,1$  g/L) bio je snažan prediktor mortaliteta nezavisan od ostalih nutritivnih ili inflamatornih markera [293]. U našoj studiji prealbumin se pokazao kao najznačajniji nutritivni biomarker u predikciji mortaliteta. Cox regresiona hazard analiza pokazala je da je statistička značajnost bila nešto veća za opšti ( $p < 0,001$ ) u odnosu na KVB mortalitet ( $p = 0,003$ ) (tabele 16, 28), dok su log-rank test i Kaplan-Meierova analiza dokazali da postoji statistički značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti prealbumina u odnosu na opšti ( $p = 0,0003$ ) i KVB mortalitet ( $p = 0,028$ ) (tabele 17, 29). Kombinacija prealbumina sa nekim drugim ispitivanim markerom imala je veći potencijal u predikciji mortaliteta od korišćenja samog prealbumina (tabele 27, 39).

Uloga RBP-4 je da vezuje i transportuje retinol preko četiri monomerna lanca prealbumina [294]. Brojne studije prikazuju jaku korelaciju između serumске koncentracije RBP-4 i simptoma metaboličkog sindroma (inflamacija, insulinska rezistencija, masna jetra) [295, 296]. Koncentracija RBP-4 je najčešće povećana kod pacijenata na HD tretmanu, djelimično zbog smanjene renalne ekskrecije i intenzivnijeg vezivanja za prealbumin [297]. Pacijenti sa ESRD, pored proteinsko-energetske malnutricije, obično imaju i deficijenciju mikronutrijenata, naročito vitamina i elemenata u tragu [298]. Nivoi retinola su, isto kao i nivoi RBP, kod pacijenata na HD tretmanu povišeni u odnosu na referentnu populaciju. Nivoi retinola i RBP dobro koreliraju, ali je odnos retinol:RBP-4 smanjen što govori u prilog činjenici da je bioiskoristivost retinola kod pacijenata na HD snižena [299, 300]. Kalousova i saradnici



dokazali su značajnu prediktivnu sposobnost retinola za mortalitet (opšti i KVB) kod pacijenata na HD, niže koncentracije retinola bile su statistički značajno povezane sa lošim ishodom pacijenata [301]. Cox hazard regresiona analiza u našoj ispitivanoj populaciji dokazala je statističku značajnost RBP za predikciju mortaliteta, kako opšteg tako i mortaliteta uslovljenog KVB ( $p < 0,05$ ) (tabele 16, 28). Log-rank test i Kaplan-Meierova analiza pokazali su statistički značajnu razliku između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti RBP u odnosu na opšti mortalitet i KVB mortalitet ( $p < 0,05$ ) (tabele 17, 29).

Albumin, prealbumin, RBP i transferin su proteini čija se serumaska koncentracija najčešće koristi za procjenu nutritivnog statusa, ali su sva četiri proteina negativni reaktanti akutne faze, te snižavanje njihove koncentracije u serumu korelira sa inflamatornim odgovorom organizma. Neki autori naglašavaju da se ovi serumski proteini iz tog razloga ne mogu smatrati ni specifičnim ni senzitivnim indikatorima nutritivnog statusa [302]. Međutim, kod pacijenata na HD tretmanu albumin i prealbumin su preporučeni biohemijski markeri nutritivnog statusa [30] a rezultati naše studije su dokazali značaj kako ova dva preporučena markera, tako i značaj još nekih biohemijskih markera nutritivnog statusa kod pacijenata na HD tretmanu.

Analiza raspodjele nivoa ispitivanih biomarkera po tercilima prealbumina pokazala je da nivoi nutritivnih parametara (RBP, albumin, BuChE, IGF-1, IGFBP-3) rastu po tercilima prealbumina, dok se nivoi inflamatornih markera (hsCRP i IL-6) i parametar oksidativnog stresa PAB smanjuju po tercilima prealbumina (tabela 42), što govori da su inflamacija i oksidativni stres manji što je nutritivni status bolji. Oksidativni stres, inflamacija i nutritivni status su isprepleteni i povezani procesi koji bi se trebali zajedno istraživati. Zbog njihove isprepletenosti pretpostavka je da pozitivan uticaj na jedan proces uslovljava poboljšanje i druga dva. U tabeli 42 prikazali smo i da nivoi hsTnI takođe opadaju po tercilima prealbumina. Najniže koncentracije hsTnI bile su u tercilu najviših koncentracija prealbumina. Takav rezultat sugerise da bolji nutritivni status uzrokuje nižu bazalnu koncentraciju hsTnI i smanjen rizik od mortaliteta.

Axelsson i saradnici su dokazali da IGF-1 korelira sa markerima PEG i sarkopenije kod pacijenata na HD tretmanu. IGFBP-3 u toj studiji nije bio dobar parametar nutritivnog statusa ali je zbog njegove korelacije sa inflamacijom sugerisano da IGFBP-3 može uticati na biološku aktivnost IGF-1 [303]. IGF-1 se u našoj studiji u cox regresionoj analizi pokazao kao značajan prediktor opšteg mortaliteta ( $p < 0,05$ ), međutim njegov značaj se izgubio kod KVB mortaliteta. Za razliku od njega, IGFBP-3 nije pokazao statističku značajnost u predikciji mortaliteta. Jia i saradnici su takođe pokazali da bazalne koncentracije IGF-1 kao i promjena u koncentraciji IGF-1 u toku 1 godine predstavljaju dobar prediktor mortaliteta u periodu od 5 godina [304].

Hormon rasta i IGF-1 imaju anabolički efekat i povećavaju mišićnu masu. Promjene u fiziološkoj osi HR/IGF-1 imaju uticaj na razvoj PEG kod pacijenata na HD tretmanu. Stečena rezistencija na anaboličko dejstvo hormona rasta je potencijalni uzročnik povećanog katabolizma proteina u ESRD. IGF-1 je medijator HR, sintetise se njegovom stimulacijom i odgovoran je za većinu fizioloških uloga HR [305]. Uremija i inflamatorni milje, kao i metabolička acidoza i snižen proteinsko-energetski unos kod pacijenata sa HRI, utiču na ćelijsku rezistenciju na hormon rasta [306]. Svi dokazi do sada upućuju na isprepleten značaj hormonskih, metaboličkih i nutritivnih faktora u razvoju PEG kod pacijenata na HRI. Terapija rekombinantnim hormonom rasta poboljšava mišićni proteinski balans, inflamaciju, kardiovaskularni status, lipidni profil

i eritropoezu [307]. Brojne studije su evaluirale korisnost dugoročne primjene anaboličkih hormona za poboljšanje nutritivnog statusa kod pacijenata na HD tretmanu kod kojih je utvrđen PEG. Kod svih pacijenata koji su primili hormon rasta ili njegov agonist značajno se poboljšala tjelesna težina [308, 309], kao i brojni faktori rizika za razvoj KVB [310]. Danas se rekombinantni hormon rasta i rekombinantni IGF-1 ne koriste često za tretman PEG kod pacijenata sa HRI ali predstavljaju potencijalno izuzetno efektivnu terapiju [40].

Butirilholin esteraza (pseudoholin esteraza) je biomarker malnutricije, inflamacije i sintetske funkcije jetre [311]. Kod pacijenata na hroničnom HD tretmanu BuChE se uz ostale tradicionalne parametre koristila kao prognostički marker [312]. Kombinacija ovog markera sa drugim parametrima je poželjna jer može povećati prognostički kapacitet [313]. BuChE je dokazala svoj potencijal u predikciji mortaliteta kod mladih pacijenata sa akutnim koronarnim sindromom [314], kao i kod pacijenata nakon kardiohirurške intervencije [315]. U našoj studiji pokazali smo da se aktivnost BuChE značajno promijenila kod pacijenata na HD tretmanu u razmaku od jedne godine. Aktivnost se značajno smanjila, što ukazuje na pogoršanje nutritivnog statusa u našoj ispitivanoj populaciji. Zbog širokog opsega referentnih vrijednosti, ponovljena mjerenja BuChE su korisnija za monitoring u odnosu na pojedinačna određivanja. Cox regresionom hazard analizom smo dokazali statističku značajnost BuChE kao prediktora opšteg mortaliteta ( $p < 0,05$ ) (tabela 16), dok je značajnost ovog biomarkera u predikciji mortaliteta uzrokovanog KVB bila granična ( $p = 0,057$ ) (tabela 28). Kaplan-Meierova analiza preživljavanja pokazala je da postoji značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* aktivnosti BuChE i opšteg mortaliteta ( $p < 0,05$ ) (tabela 17), dok ta zavisnost ne postoji kod KVB mortaliteta (tabela 29).

hsTnI, marker ishemije miokarda, u našu smo studiju uključili kao jedan od klasičnih faktora rizika – pokazatelja KVB. Medijana za hsTnI u našoj ispitivanoj populaciji je bila 21 ng/L sa interkvartilnim opsegom od 9–38 ng/L (tabela 6). *Cut-off* vrijednost za opštu populaciju određena od strane proizvođača na 99-tom percentilu bila je 26,2 ng/L. Medijana u našoj populaciji je bila ispod *cut-off* vrijednosti ali su medijane u obje grupe umrlih pacijenata bile veće od *cut-off* vrijednosti. Kod opšteg mortaliteta medijana hsTnI bila je 38,0 ng/L (21,0–69,0), kod KVB mortaliteta medijana je bila 40,0 ng/L (17,5–229,8), dok je 75-ti percentil hsTnI kod preživjelih pacijenata bio niži od *cut-off* vrijednosti za opštu populaciju (12,0 ng/L (7,0–26,0)) (tabela 15). U našoj populaciji nije bilo pacijenata sa simptomima AKS, ali 39,2% njih je imalo koncentraciju hsTnI iznad *cut-off*-a. Kod pacijenata sa HRI prevalenca povećanog troponina je visoka što može uticati na dijagnostičku specifičnost troponina za akutni infarkt miokarda (AIM) u ovoj populaciji pacijenata [316, 317]. Poznato je da su nivoi kardijačnog troponina viši kod pacijenata koji su na stalnoj hemodijaliznoj terapiji u odnosu na opštu populaciju. Uvođenje u praksu visoko-senzitivnih testova koji mogu detektovati minimalne koncentracije kardijačnih troponina kod ~50–90% zdravih individua još više je povećalo broj pacijenata na HD sa visokim koncentracijama hsTnI ili hsTnT [318].

Cox regresionom hazard analizom na našoj populaciji pacijenata dokazali smo prognostičku sposobnost hsTnI za mortalitet kod pacijenata na HD tretmanu, kako opšti ( $p < 0,001$ ), tako i KVB ( $p = 0,001$ ) (tabele 16, 28). Kaplan-Meierove krive preživljavanja i log-rank test pokazali su da postoji statistički značajna razlika između grupa definisanih *cut-off* vrijednostima hsTnI u odnosu na opšti ( $p = 0,0003$ ) i KVB mortalitet ( $p = 0,006$ ) (tabele 17, 29). Koncentracije hsTnI iznad *cut-off* vrijednosti kod pacijenata na HD tretmanu ne moraju ukazivati na AIM, ali rezultati naše studije sugerišu da su

visoke koncentracije hsTnI u ovoj populaciji, povezane sa mortalitetom, kako ukupnim, tako i onim izazvanim KVB bolestima. Alam i saradnici su takođe dokazali povezanost povišenog troponina I i mortaliteta uzrokovanim KVB [319]. Kombinujući koncentraciju hsTnI sa nivoima drugih parametara statistički značajna razlika između grupa u Kaplan-Meierovoj analizi za opšti mortalitet je bila još veća, pri čemu je kombinacija hsTnI sa inflamatornim markerima pokazala izuzetan potencijal za predikciju mortaliteta (tabela 27). U grupi pacijenata gdje je koncentracija hsTnI bila niža od 26,2 ng/L a koncentracija IL-6 niža od 3,4 pg/mL umro je samo jedan pacijent (tabela 22), dok kod KVB mortaliteta u toj grupi nije bilo preminulih pacijenata (tabela 37). Takođe, od 11 pacijenata umrlih usled KVB bolesti nijedan nije umro iz grupe gdje su koncentracije hsTnI i hsCRP bile ispod *cut-off* vrijednosti (tabela 36).

U tabeli 40 prikazali smo analizu raspodjele nivoa ispitivanih biomarkera po tercilima hsTnI. Koncentracije pokazatelja nutritivnog statusa – prealbumina i IGF-1 su se smanjivale po tercilima hsTnI. Najniže koncentracije prealbumina (0,26±0,08 g/L) i IGF-1 (183,82±113,01 ng/mL) bile su u trećem, najvišem tercilu hsTnI (>28 ng/L). Za razliku od njih, koncentracija biomarkera oksidativnog stresa – PAB povećavala se po tercilima hsTnI i u trećem tercilu koncentracija hsTnI koncentracija PAB bija je najviša (41,83±25,97 HK jedinice). Naši rezultati sugerišu da lošiji nutritivni status i intezivniji oksidativni stres uslovljavaju povećane nivoe hsTnI.

U poslednje vrijeme opisan je značaj serijskih mjerenja koncentracije hsTnI. Wallenborn i saradnici su dokazali da su konstantno visoke koncentracije hsTnI ili nivoi koji su u svakom narednom serijskom mjerenju bili sve viši, bile u korelaciji sa većom učestalošću ishoda od značaja: opšti i KVB mortalitet, uz rehospitalizaciju kod pacijenata nakon akutne kardijalne dekompenzacije [320]. Cavander i saradnici su u okviru EXAMINE studije takođe ustanovili povezanost između bazalnog i mjerenja nakon šest mjeseci hsTnI i kardiovaskularnih ishoda kod pacijenata sa diabetes mellitusom tip 2 [321]. U našoj studiji bazalne koncentracije hsTnI su pokazale značajan potencijal u predikciji mortaliteta kod pacijenata na HD tretmanu. Međutim, zbog hsTnI nivoa koji su kod ovih pacijenata obično viši od *cut-off* vrijednosti, praćenje pacijenata kroz serijska mjerenja ovog biomarkera u određenim vremenskim intervalima mogla bi imati veliki značaj u stratifikaciji rizika.

Longitudinalna serijska mjerenja nivoa biomarkera mogu imati veći značaj u predikciji kliničkih ishoda kod pacijenata na HD tretmanu u odnosu na jedno, bazalno mjerenje. U našoj studiji smo za 48 pacijenata evaluirali promjenu nivoa pojedinih ispitivanih biomarkera između bazalnog mjerenja i mjerenja nakon godinu dana (tabele 45, 46). Nakon jedne godine TAS ( $p<0,001$ ) i BuChE ( $p<0,05$ ) su bili statistički značajno niži kod naših pacijenata, hsCRP i IL-6 su bili značajno viši ( $p<0,05$ ), dok su RBP i IGF-1 takođe imali značajno veće koncentracije nakon jedne godine ( $p<0,05$ ). Veće koncentracije RBP i IGF-1 nakon jedne godine u odnosu na bazalno mjerenje mogu se objasniti povećanjem serumskih nivoa ovih parametara zbog njihove smanjene ekskrecije usled konstantnog smanjenja renalne funkcije. Koncentracije ostalih nutritivnih parametara, albumina i prealbumina, nisu se statistički značajno razlikovale. Smanjenje aktivnosti BuChE nakon jedne godine govori o pogoršanju nutritivnog statusa pacijenata. Sa druge strane, smanjenje koncentracije TAS u razmaku od jedne godine sugeriše pogoršanje antioksidativnog statusa pacijenata, dok viši nivoi hsCRP i IL-6 govore u prilog povećanja inflamacije kod pacijenata na HD tretmanu.

Naši rezultati dokazuju da su pacijenti umrli nakon dvije godine bili izloženiji inflamaciji i oksidativnom stresu i da je njihov nutritivni status bio lošiji. Biomarkeri inflamacije, oksidativnog stresa, nutritivnog statusa i hsTnI su se pokazali kao izuzetno dobri prediktori opšteg i mortaliteta uzrokovanog KVB.

Rezultati ove studije su pokazali pogoršanje nutritivnog, antioksidativnog i inflamatornog statusa pacijenata na HD tretmanu u toku jedne godine i tako ukazali na mogući veći potencijal serijskih mjerenja biomarkera u odnosu na jedno bazalno mjerenje.

Kao najbolji prediktori mortaliteta u ovoj studiji pokazali su se IL-6, prealbumin, hsTnI koji se u našoj studiji pokazao kao dobar prediktor i KVB i opšteg mortaliteta; zatim mokraćna kiselina, rutinski biomarker, čiji se značaj u predikciji mortaliteta često zapostavlja i PAB, biomarker oksidativnog stresa koji je do sada nedovoljno istraživan. PAB se u našoj studiji pokazao kao najosetljiviji biomarker oksidativnog stresa. S obzirom da je ovaj biomarker do sada rijetko korišćen, njegov potencijal bi trebalo dokazati u budućim multicentričnim studijama sa većim brojem pacijenata.

Kombinacija bilo koja dva statistički značajna biomarkera pokazala je veći potencijal u predikciji mortaliteta od pojedinačnih markera.

Naši rezultati sugerišu da su oksidativni stres, inflamacija i nutritivni status uzročno-posledični procesi koje ne treba razgraničavati. Zbog njihove isprepletenosti pretpostavka je da pozitivan uticaj na jedan proces uslovljava poboljšanje i druga dva. hsTnI je u našoj studiji takođe pokazao uslovljenost nutritivnim i oksidativnim statusom pacijenata, što bi se trebalo dalje istražiti i potvrditi.

Ova studija je izvođena u najvećem hemodijaliznom centru u Crnoj Gori, te je njome obuhvaćeno skoro 70% pacijenata na HD tretmanu na nivou države. Međutim, i pored toga, najveće ograničenje ove studije upravo je bio mali broj pacijenata. Takođe je jedno od ograničenja ovog ispitivanja bilo to što zbog broja pacijenata nije bilo moguće oformiti dvije grupe pacijenata – jednu koja bi u sklopu terapijskih intervencija koristila antioksidanse i drugu koja ne bi uzimala antioksidanse, a predstavljala bi kontrolnu grupu. Na taj način bi mogli ispitati značaj terapijskih intervencija na klinički status pacijenata i zavisnost ishoda pacijenata od primjenjene terapije.

## 6. ZAKLJUČCI

1. BMI, obim struka i obim kuka su bili značajno viši kod pacijenata u grupi KVB rizik u odnosu na pacijente u grupi Ostalo.
2. Posmatrani laboratorijski parametri kod pacijenata grupisanih u KVB rizik grupu nisu se razlikovali između muškaraca i žena, kao ni između pušača i nepušača.
3. Veliki broj ispitivanih parametara korelirao je sa nekim od tradicionalnih faktora rizika za KVB ( $p < 0,05$ ). Od ispitivanih parametara od interesa TOS i MDA su korelirali sa koncentracijom homocisteina, mokraćna kiselina nakon HD, hsCRP, IL6 i albumin korelirali su sa holesterolom i LDL-holesterolom, prealbumin i RBP korelirali su sa ApoB, dok je prealbumin pored toga korelirao i sa LDL-holesterolom i BMI, IGF1 je takođe korelirao sa koncentracijom LDL-holesterola, a MPO sa nivoom hsTnI i zajedno sa rezistinom i sa MIS *score*-om.
4. Bazalne koncentracije inflamatornih parametara (hsCRP i IL-6) su bile značajno niže kod preživjelih pacijenata nego u grupi opšteg ( $p < 0,001$ ) i KVB mortaliteta ( $p < 0,05$ ).
5. Bazalne koncentracije nutritivnih parametara (prealbumin, RBP) su bile značajno više kod preživjelih pacijenata u odnosu na obje grupe mortaliteta ( $p < 0,05$ ).
6. Od markera oksidativnog stresa/antioksidativne zaštite samo su se bazalne koncentracije PAB ( $p < 0,001$ ) i MPO ( $p < 0,05$ ) pokazale statistički značajno višim kod umrlih pacijenata (svih i onih umrlih usled KVB bolesti) u odnosu na preživjele pacijente
7. Bazalne koncentracije mokraćne kiseline nakon HD tretmana su bile značajno niže kod preživjelih pacijenata u odnosu na obje grupe umrlih ( $p < 0,05$ ).
8. Bazalne koncentracije hsTnI su bile značajno niže kod preživjelih pacijenata u odnosu na grupu opšti mortalitet ( $p < 0,001$ ) i u odnosu na KVB mortalitet ( $p < 0,05$ ).
9. Cox regresiona hazard analiza pokazala je da su PAB, hsCRP, IL6, prealbumin i hsTnI dobri prediktori opšteg mortaliteta ( $p < 0,001$ ), a pored njih i mokraćna kiselina nakon HD, BuChE, albumin, RBP, IGF1 ( $p < 0,05$ ).
10. Cox regresiona hazard analiza pokazala je da su PAB, IL6, prealbumin, hsTnI, mokraćna kiselina nakon HD, RBP ( $p < 0,05$ ) dobri prediktori mortaliteta uzrokovanog KVB.
11. Postoji statistički značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti albumina od 38 g/L ( $p < 0,05$ ) i prealbumina od 0,30 g/L ( $p < 0,001$ ) u odnosu na opšti mortalitet. Kombinacija ova dva parametra međusobno, kao i kombinacija jednog od njih sa inflamatornim biomarkerom ili hsTnI, još više povećava značajnost. Pored ova dva nutritivna markera, RBP i IGF-1 su takođe pokazali statistički značajnu razliku između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti u odnosu na opšti mortalitet.

12. Postoji statistički značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti hsCRP od 5 mg/L ( $p < 0,05$ ) i IL-6 od 3,4 pg/mL ( $p < 0,001$ ) u odnosu na opšti mortalitet. Kombinacija ova dva parametra međusobno, kao i kombinacija jednog od njih sa mokraćnom kiselinom nakon HD ili hsTnI, još više povećava značajnost.
13. Postoji statistički značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti PAB ( $p < 0,001$ ) u odnosu na opšti mortalitet. *Cut-off* vrijednost za PAB u našoj studiji bila je srednja vrijednost ovog parametra u populaciji. Kombinacija ovog biomarkera sa inflamatornim hsCRP još više povećava značajnost.
14. Postoji statistički značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti prealbumina od 0,30 g/L ( $p < 0,05$ ) i RBP u odnosu na KVB mortalitet. Kombinacija prealbumina sa inflamatornim biomarkerom ili hsTnI još više povećava značajnost.
15. Postoji statistički značajna razlika između grupa definisanih na osnovu *cut-off* vrijednosti hsCRP od 3 mg/L i IL-6 od 3,4 pg/mL ( $p = 0,05$ ) u odnosu na KVB mortalitet. Kombinacija ova dva parametra međusobno, kao i kombinacija jednog od njih sa mokraćnom kiselinom nakon HD ili hsTnI, još više povećava značajnost.
16. BuChE grupe definisane *cut-off* vrijednostima statistički značajnu razliku pokazale su samo u odnosu na opšti mortalitet.
17. Grupe definisane na osnovu *cut-off* koncentracija mokraćne kiseline nakon HD tretmana od 150  $\mu\text{mol/L}$  pokazale su statistički značajnu razliku u odnosu na opšti ( $p < 0,001$ ) i KVB mortalitet ( $p < 0,05$ ).
18. Grupe definisane na osnovu *cut-off* koncentracija hsTnI od 26,2 ng/L pokazale su statistički značajnu razliku u odnosu na opšti ( $p < 0,001$ ) i KVB mortalitet ( $p < 0,05$ ).
19. Najznačajnijim biomarkerima za predikciju mortaliteta u našoj studiji pokazali su se: IL-6, prealbumin, PAB, mokraćna kiselina, hsTnI.
20. PAB se u ovoj studiji pokazao kao najosjetljiviji biomarker oksidativnog stresa i jedini za značajnim potencijalom za predikciju mortaliteta. Njegov potencijal bi trebalo dokazati u budućim multicentričnim studijama sa većim brojem pacijenata.
21. Kombinacija bilo koja dva statistički značajna biomarkera pokazala je veći potencijal u predikciji mortaliteta od pojedinačnih markera.
22. Raspodjela nivoa ispitivanih parametara po tercilima najznačajnijih biomarkera u studiji pokazala je međusobnu izukrštanost biomarkera inflamatornog, nutritivnog i oksidativnog statusa, kao i hsTnI sa markerima oksidativnog stresa i nutritivnog statusa.
23. Aktivnost BuChE bila je značajno niža nakon jedne godine – pogoršao se nutritivni status pacijenata.
24. Koncentracije TAS su bile značajno niže nakon jedne godine – pogoršala se antioksidativna protekcija pacijenata.

25. Koncentracije hsCRP i IL-6 su bile značajno više nakon jedne godine – pogoršao se inflamatorni status pacijenata.

## 7. LITERATURA

1. Thomas R, Kanso A, Sedor JR. Chronic Kidney Disease and Its Complications. *Prim Care*. 2008;35(2):329-44.
2. Tonelli M, Wiebe N, Culleton B, House A, Rabbat C, Fok M, McAlister F, Garg AX. Chronic Kidney Disease and Mortality Risk: A Systematic Review. *JASN* 2006; 17:2034-47.
3. Gosmanova EO, Le NA. Cardiovascular complication in CKD patients: Role of Oxidative Stress; *Cardiology Research and Practice*. 2011;156326.
4. Ortiz A, Massy ZA, Fliser D, Lindholm B, Wiecek A, Martinez-Castelao A, Covic A, Goldsmith D, Suleymanlar G, London GM, Zoccali C. Clinical usefulness of novel prognostic biomarkers in patients on hemodialysis. *Nat Rev. Nephrol*. 2011;8(3):141-50.
5. Vasan RS. Biomarkers of Cardiovascular Disease, Molekular Basis and Practical Consideration. *Circulation*. 2006;113:2335-62.
6. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69:89-95.
7. Manolio T. Novel risk markers and clinical practice. *N Engl J Med*. 2003;349:1587-9.
8. Kattan MW. Evaluating a new marker's predictive contribution. *Clin Cancer Res*. 2004;10:822-4.
9. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. National Kidney Foundation. 2012.
10. Siti HN, Kamisah Y, Kamsiah J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). *Vascular pharmacology* 2015;71:40-56.
11. Stenvinkel P, Carrero JJ, Axelsson J, Lindholm B, Heimbürger O, Massy Z. Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in the chronic kidney disease patient: how do new pieces fit into the uremic puzzle? *CJASN* 2008;3:505-21.
12. Ritz E, Dikow R, Morath C, Schwenger V. Salt--a potential 'uremic toxin'? *Blood purification* 2006;24:63-6.
13. Carrero JJ, Stenvinkel P, Cuppari L, Ikizler TA, Kalantar-Zadeh K, Kaysen G, Mitch WE, Price SR, Wanner C, Wang AY, ter Wee P, Franch HA. Etiology of the protein-energy wasting syndrome in chronic kidney disease: a consensus statement from the International Society of Renal Nutrition and Metabolism (ISRNM). *Journal of renal nutrition* 2013;23:77-90.
14. Siew ED, Ikizler TA. Insulin resistance and protein energy metabolism in patients with advanced chronic kidney disease. *Semin dial*. 2010;23:378-82.
15. Cordeiro AC, Qureshi AR, Stenvinkel P, Heimbürger O, Axelsson J, Bárány P, Lindholm B, Carrero JJ. Abdominal fat deposition is associated with increased inflammation, protein-energy wasting and worse outcome in patients undergoing haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25:562-8.
16. Snaedal S. Markers of inflammation and cardiovascular disease in dialysis patients: variability and prognostic value. PhD Thesis. Karolinska Institutet, Stockholm, 2016.
17. Lim VS, Ikizler TA, Raj DS, Flanigan MJ. Does hemodialysis increase protein breakdown? Dissociation between whole-body amino acid turnover and regional muscle kinetics. *JASN* 2005;16:862-8.



18. Jansen MA, Hart AA, Korevaar JC, Dekker FW, Boeschoten EW, Krediet RT. Predictors of the rate of decline of residual renal function in incident dialysis patients. *Kidney Int.* 2002;62:1046-53.
19. Thomson PC, Stirling CM, Geddes CC, Morris ST, Mactier RA. Vascular access in haemodialysis patients: a modifiable risk factor for bacteraemia and death. *QJM* 2007;100:415-22.
20. Kalender B, Ozdemir AC, Koroglu G. Association of depression with markers of nutrition and inflammation in chronic kidney disease and end-stage renal disease. *Nephron Clinical practice* 2006;102:c115-21.
21. Koyama H, Fukuda S, Shoji T, Inaba M, Tsujimoto Y, Tabata T, Okuno S, Yamakawa T, Okada S, Okamura M, Kuratsune H, Fujii H, Hirayama Y, Watanabe Y, Nishizawa Y. Fatigue is a predictor for cardiovascular outcomes in patients undergoing hemodialysis. *CJASN* 2010;5:659-66.
22. Stefansson BV, Brunelli SM, Cabrera C, Rosenbaum D, Anum E, Ramakrishnan K, Jensen DE, Stålhammar N-O. Intradialytic hypotension and risk of cardiovascular disease. *CJASN* 2014;9:2124-32.
23. Meyring-Wosten A, Zhang H, Ye X, Fuertinger DH, Chan L, Kappel F, Artemyev M, Ginsberg N, Wang Y, Thijssen S, Kotanko P. Intradialytic Hypoxemia and Clinical Outcomes in Patients on Hemodialysis. *CJASN* 2016;11(4):616-25.
24. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *JASN* 1998;32:S112-9.
25. de Jager DJ, Grootendorst DC, Jager KJ, van Dijk PC, Tomas LM, Ansell D, Collart F, Finne P, Heaf JG, De Meester J, Wetzels JF, Rosendaal FR, Dekker FW. Cardiovascular and noncardiovascular mortality among patients starting dialysis. *JAMA* 2009;302:1782-9.
26. McDonald SP, Marshall MR, Johnson DW, Polkinghorne KR. Relationship between dialysis modality and mortality. *JASN* 2009;20:155-63.
27. Goodkin DA, Bragg-Gresham JL, Koenig KG, Wolfe RA, Akiba T, Andreucci VE, Saito A, Rayner HC, Kurokawa K, Port FK, Held PJ, Young EW. Association of comorbid conditions and mortality in hemodialysis patients in Europe, Japan, and the United States: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *JASN* 2003;14:3270-7.
28. Plantinga LC, Fink NE, Levin NW, Jaar BG, Coresh J, Levey AS, Klag MJ, Powe NR. Early, intermediate, and long-term risk factors for mortality in incident dialysis patients: the Choices for Healthy Outcomes in Caring for ESRD (CHOICE) Study. *AJKD* 2007;49:831-40.
29. Davies SJ, Phillips L, Naish PF, Russell GI. Quantifying comorbidity in peritoneal dialysis patients and its relationship to other predictors of survival. *Nephrol Dial Transplant.* 2002;17:1085-92.
30. Fouque D, Kalantar-Zadeh K, Kopple J, Cano N, Chauveau P, Cuppari L, Franch H, Guarnieri G, Ikizler TA, Kaysen G, Lindholm B, Massy Z, Mitch W, Pineda E, Stenvinkel P, Treviño-Becerra A, Wanner C. A proposed nomenclature and diagnostic criteria for protein-energy wasting in acute and chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2008;73:391-8.
31. Pupim LB, Caglar K, Hakim RM, Shyr Y, Ikizler TA. Uremic malnutrition is a predictor of death independent of inflammatory status. *Kidney Int* 2004; 66: 2054–60.
32. Cheung W, Yu PX, Little BM, Cone RD, Marks DL, Mak RH. Role of leptin and melanocortin signaling in uremia-associated cachexia. *J Clin Invest* 2005; 115:1659–65.

33. Mehrotra R., Kopple J. Causes of protein-energy malnutrition in chronic renal failure. U: J. Kopple, S. Massry (Eds.) *Nutritional Management of Renal Disease*. ed 2. Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, Lippincott; 2003.167–182.
34. Pecoits-Filho R, Lindholm B, Stenvinkel P. The malnutrition, inflammation, and atherosclerosis (MIA) syndrome—the heart of the matter. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17(Suppl 11):28–31.
35. Castaneda C, Gordon PL, Parker RC, Uhlin KL, Roubenoff R, Levey AS. Resistance training to reduce the malnutrition–inflammation complex syndrome of chronic kidney disease. *AJKD* 2004;43: 607–16.
36. Avesani CM, Carrero JJ, Axelsson J, Qureshi AR, Lindholm B, Stenvinkel P. Inflammation and wasting in chronic kidney disease: partners in crime. *Kidney Int*. 2006; 70 Suppl 104: S8–S13.
37. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B. Wasting, but not malnutrition, predicts cardiovascular mortality in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 2181–83.
38. Covesdy CP, Kalantar-Zadeh K. Accuracy and Limitations of the Diagnosis of Malnutrition in Dialysis Patients. *Semin Dial*. 2012;25(4):423-27.
39. Gracia-Iguacel C, Gonzalez-Parra E, Perez-Gomez MV, Mahillo I, Egido J, Ortiz A, Carrero JJ. Prevalence of protein-energy wasting syndrome and its association with mortality in haemodialysis patients in a centre in Spain. *Nefrologia* 2013;33(4):495-505.
40. Stenvinkel P, Carrero JJ, von Walden F, Ikizler TA, Nader GA. Muscle wasting in end-stage renal disease promulgates premature death: established, emerging and potential novel treatment strategies. *Nephrol Dial Transplant*. 2016;31(7):1070-7.
41. Fung F, Sherrard DJ, Gillen DL, Wong C, Kestenbaum B, Seliger S, Ball A, Stehman-Breen C. Increased risk for cardiovascular mortality among malnourished end-stage renal disease patients. *AJKD* 2002; 40(2):307-14.
42. Ikizler TA, Pupim RB, Brouillette JR, Levenhagen DK, Farmer K, Hakim RM, Flakoll PJ. Hemodialysis stimulates muscle and whole-body protein loss and alters substrate oxidation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002; 282(1):E107– 16.
43. Kalantar-Zadeh K, Block G, McAllister CJ, Humphreys MH, Kopple JD. Appetite and inflammation, nutrition, anemia, and clinical outcome in hemodialysis patients. *Am J Clin Nutr*. 2004;80:299-307.
44. Sonikian M, Metaxaki P, Papavasileiou D, Boufidou F, Nikolaou C, Vlassopoulos D, Vlahakos D.V. Effects of interleukin-6 on depression risk in dialysis patients. *Am J Nephrol* 2010;31(4):303-8.
45. Mafra D, Deleaval P, Teta D, Cleaud C, Arkouche W, Jolivot A, Fouque D. Influence of inflammation on total energy expenditure in hemodialysis patients. *J Ren Nutr*. 2011;21(5):387-93.
46. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt JP, Kebede M, Salama L, Lambrey G, Witko-Sarsat V, Drüeke TB, Lacour B, Thévenin M. Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant*. 2001;16(2):335-40.
47. Carrero JJ, Chmielewski M, Axelsson J, Snaedal S, Heimbürger O, Bárány P, Suliman ME, Lindholm B, Stenvinkel P, Qureshi AR. Muscle atrophy, inflammation and clinical outcome in incident and prevalent dialysis patients. *Clin Nutr*. 2008;27(4):557-64.
48. Kaysen GA, Greene T, Daugirdas JT, Kimmel PL, Schulman GW, Toto RD, Levin NW, Yan G; HEMO Study Group. Longitudinal and cross-sectional effects of Creactive protein, equilibrated normalized protein catabolic rate, and serum

- bicarbonate on creatinine and albumin levels in dialysis patients. *AJKD* 2003;42(6):1200-11.
49. Lecker SH, Goldberg AL, Mitch WE. Protein degradation by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease States. *JASN* 2006; 17(7):1807–19.
  50. de Brito-Ashurst I, Varaganam M, Raftery MJ, Yaqoob MM. Bicarbonate Supplementation Slows Progression of CKD and Improves Nutritional Status. *JASN* 2009;20(9):2075-84.
  51. Tonshoff B, Schaefer F, Mehls O. Disturbance of growth hormone-insulin-like growth factor axis in uraemia. Implications for recombinant human growth hormone treatment. *Pediatr Nephrol.* 1990;4:654–62.
  52. Ikizler TA. Optimal Nutrition in Hemodialysis Patients. *ACKD* 2013;20(2):181-9.
  53. Nutrition and Hemodialysis; Dr.Mona Tawfik Lecturer of Internal Medicine MNDU [cited 2017 May 20]. [Internet]. Available from <https://www.slideshare.net/DrMohaM/nutrition-and-hemodialysis>
  54. Kopple JD. National kidney foundation K/DOQI clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. *AJKD* 2001; 37:S66–70.
  55. Ikizler TA, Cano NJ, Franch H, Fouque D, Himmelfarb J, Kalantar-Zadeh K, Kuhlmann MK, Stenvinkel P, TerWee P, Teta D, Wang AY, Wanner C. Prevention and treatment of protein energy wasting in chronic kidney disease patients: a consensus statement by the International Society of Renal Nutrition and Metabolism. *Kidney Int* 2013; 84:1096–107.
  56. Kovesdy CP, Shinaberger CS, Kalantar-Zadeh K. Epidemiology of dietary nutrient intake in ESRD. *Semin Dial.* 2010; 23:353–8.
  57. Shinaberger CS, Greenland S, Kopple JD, Van Wyck D, Mehrotra R, Kovesdy CP, Kalantar-Zadeh K. Is controlling phosphorus by decreasing dietary protein intake beneficial or harmful in persons with chronic kidney disease? *AJCN* 2008; 88(6):1511–8.
  58. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1999;55:648–58.
  59. Kritchevsky SB, Cesari M, Pahor M. Inflammatory markers and cardiovascular health in older adults. *Cardiovascular research* 2005;66:265-75.
  60. Akchurin OM, Kaskel F. Update on Inflammation in Chronic Kidney Disease. *Blood Purif.* 2015;39:84-92.
  61. Kooman JP, Kotanko P, Schols AM, Shiels PG, Stenvinkel P. Chronic kidney disease and premature ageing. *Nat Rev Nephrol.* 2014;10(12):732-42.
  62. Raj DS, Carrero JJ, Shah VO, Qureshi AR, Barany P, Heimbürger O, Lindholm B, Ferguson J, Moseley PL, Stenvinkel P. Soluble CD14 levels, interleukin 6, and mortality among prevalent hemodialysis patients. *AJKD* 2009;54:1072-80.
  63. Whaley-Connell A, Pavey BS, Chaudhary K, Saab G, Sowers JR. Renin-angiotensinaldosterone system intervention in the cardiometabolic syndrome and cardio-renal protection. *Ther Adv Cardiovasc Dis.* 2007;1(1):27-35.
  64. Gupta J, Mitra N, Kanetsky PA, Devaney J, Wing MR, Reilly M, Shah VO, Balakrishnan VS, Guzman NJ, Girndt M, Periera BG, Feldman HI, Kusek JW, Joffe MM, Raj DS. Association between albuminuria, kidney function, and inflammatory biomarker profile in CKD in CRIC. *CJASN* 2012;7:1938–46.
  65. Qureshi AR, Alvestrand A, Divino-Filho JC, Gutierrez A, Heimbürger O, Lindholm B, Bergström J. Inflammation, malnutrition, and cardiac disease as predictors of mortality in hemodialysis patients. *JASN* 2002;13 (Suppl 1):S28-36.

66. Noh H, Lee SW, Kang SW, Shin SK, Choi KH, Lee HY, Han DS. Serum C-reactive protein: a predictor of mortality in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int.* 1998;18(4):387-94.
67. Bazeley J, Bieber B, Li Y, Morgenstern H, de Sequera P, Combe C, Yamamoto H, Gallagher M, Port FK, Robinson BM. C-reactive protein and prediction of 1-year mortality in prevalent hemodialysis patients. *CJASN* 2011;6(10):2452–61.
68. Bologa RM, Levine DM, Parker TS, Cheigh JS, Serur D, Stenzel KH, Rubin AL. Interleukin-6 predicts hypoalbuminemia, hypocholesterolemia, and mortality in hemodialysis patients. *AJKD* 1998;32:107-14.
69. Honda H, Qureshi AR, Heimbürger O, Barany P, Wang K, Pecoits-Filho R, Stenvinkel P, Lindholm B. Serum albumin, C-reactive protein, interleukin 6, and fetuin A as predictors of malnutrition, cardiovascular disease, and mortality in patients with ESRD. *AJKD* 2006;47:139-48.
70. Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C. Inflammation markers, adhesion molecules, and all-cause and cardiovascular mortality in patients with ESRD: searching for the best risk marker by multivariate modeling. *JASN* 2005;16:S83–8.
71. Van Snick J. Interleukin-6: an overview. *Annual review of immunology* 1990;8:253-78.
72. Ganapathi MK, Schultz D, Mackiewicz A, Samols D, Hu SI, Brabenec A, Macintyre SS, Kushner I. Heterogeneous nature of the acute phase response. Differential regulation of human serum amyloid A, C-reactive protein, and other acute phase proteins by cytokines in Hep 3B cells. *J Immunol.* 1988;141(2):564-9.
73. Cohen SD, Phillips TM, Khetpal P, Kimmel PL. Cytokine patterns and survival in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25:1239-43.
74. Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, Lindholm B, Pecoits-Filho R, Riella M, Heimbürger O, Cederholm T, Girndt M. IL-10, IL-6, and TNF- $\alpha$ : Central factors in the altered cytokine network of uremia – The good, the bad, and the ugly. *Kidney Int.* 2005;67(4):1216-33.
75. Iglesias P, Diez JJ: Adipose tissue in renal disease: clinical significance and prognostic implications. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25:2066-77.
76. Miyamoto S, Sharma K. Adipokines protecting CKD. *Nephrol Dial Transplant.* 2013;28(Suppl 4):iv15–22.
77. Shankar A, Syamala S, Xiao J, Muntner P. Relationship between plasma leptin level and chronic kidney disease. *Int J Nephrol.* 2012:269532.
78. Adamczak M, Chudek J, Wiecek A. Adiponectin in patients with chronic kidney disease. *Semin Dial.* 2009;22:391-5.
79. de Oliveira RB, Liabeuf S, Okazaki H, Lenglet A, Desjardins L, Lemke HD, Vanholder R, Choukroun G, Massy ZA. The clinical impact of plasma leptin levels in a cohort of chronic kidney disease patients. *Clin Kidney J.* 2013;6:63-70.
80. Park JT, Yoo TH, Kim JK, Oh HJ, Kim SJ, Yoo DE, Lee MJ, Shin DH, Han SH, Han DS, Kang SW. Leptin/adiponectin ratio is an independent predictor of mortality in nondiabetic peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int.* 2013;33:67-74.
81. Kalantar-Zadeh K. Recent advances in understanding the malnutrition-inflammation-cachexia syndrome in chronic kidney disease patients: What is next? *Semin Dial.* 2005;18(5):365-9.
82. Stenvinkel P. Can treating persistent inflammation limit protein energy wasting? *Semin Dial.* 2013;26:16-9.
83. Taraz M, Taraz S, Dashti-Khavidaki S. Association between depression and inflammatory/anti-inflammatory cytokines in chronic kidney disease and end-stage renal disease patients: a review of literature. *Hemodial Int.* 2015;19(1):11-22.

84. Meuwese CL, Carrero JJ, Stenvinkel P. Recent insights in inflammation-associated wasting in patients with chronic kidney disease. *Contrib Nephrol.* 2011;171:120-6.
85. Rosengren BI, Sagstad SJ, Karlsen TV, Wiig H. Isolation of interstitial fluid and demonstration of local proinflammatory cytokine production and increased absorptive gradient in chronic peritoneal dialysis. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2013;304:F198-206.
86. Kim HJ, Vaziri ND. Contribution of impaired Nrf2-Keap1 pathway to oxidative stress and inflammation in chronic renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010;298:F662-71.
87. Aveles PR, Criminacio CR, Goncalves S, Bignelli AT, Claro LM, Siqueira SS, Nakao LS, Pecoits-Filho R. Association between biomarkers of carbonyl stress with increased systemic inflammatory response in different stages of chronic kidney disease and after renal transplantation. *Nephron Clin Pract.* 2010; 116:c294-9.
88. Ori Y, Bergman M, Bessler H, Zingerman B, Levy-Drummer RS, Gafter U, Salman H. Cytokine secretion and markers of inflammation in relation to acidosis among chronic hemodialysis patients. *Blood Purif.* 2013;35:181-6.
89. Nassar GM. Preventing and treating inflammation: role of dialysis access management. *Semin Dial.* 2013;26:28-30.
90. Buhlin K, Barany P, Heimburger O, Stenvinkel P, Gustafsson A. Oral health and proinflammatory status in end-stage renal disease patients. *Oral Health Prev Dent.* 2007;5(3):235-44.
91. Kshirsagar AV, Craig RG, Moss KL, Beck JD, Offenbacher S, Kotanko P, Klemmer PJ, Yoshino M, Levin NW, Yip JK, Almas K, Lupovici EM, Usvyat LA, Falk RJ. Periodontal disease adversely affects the survival of patients with end-stage renal disease. *Kidney Int.* 2009; 75:746-51.
92. Vaziri ND, Wong J, Pahl M, Piceno YM, Yuan J, DeSantis TZ, Ni Z, Nguyen TH, Andersen GL. Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora. *Kidney Int.* 2013;83(2):308-15.
93. Shi K, Wang F, Jiang H, Liu H, Wei M, Wang Z, Xie L. Gut bacterial translocation may aggravate microinflammation in hemodialysis patients. *Dig Dis Sci.* 2014;59(9):2109-17.
94. Sterling KA, Eftekhari P, Girndt M, Kimmel PL, Raj DS. The immunoregulatory function of vitamin D: implications in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2012;8: 403-12.
95. Roubicek T, Bartlova M, Krajickova J, Haluzikova D, Mraz M, Lacinova Z, Kudla M, Teplan V, Haluzik M. Increased production of proinflammatory cytokines in adipose tissue of patients with end-stage renal disease. *Nutrition.* 2009;25:762-8.
96. Kerr JD, Holden RM, Morton AR, Nolan RL, Hopman WM, Pruss CM, Garland JS. Associations of epicardial fat with coronary calcification, insulin resistance, inflammation, and fibroblast growth factor-23 in stage 3-5 chronic kidney disease. *BMC Nephrol.* 2013;14:26.
97. Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, Watkins LR, Wang H, Abumrad N, Eaton JW, Tracey KJ. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature.* 2000;405:458-62.
98. Friedrich B, Alexander D, Janessa A, Haring HU, Lang F, Risler T. Acute effects of hemodialysis on cytokine transcription profiles: evidence for C-reactive protein-dependency of mediator induction. *Kidney Int.* 2006; 70: 2124-30.
99. Memoli B, Minutolo R, Bisesti V, Postiglione L, Conti A, Marzano L, Capuano A, Andreucci M, Balletta MM, Guida B, Tetta C; Collaborative Study Group on SMC Membrane. Changes of serum albumin and C-reactive protein are related to

- changes of interleukin-6 release by peripheral blood mononuclear cells in hemodialysis patients treated with different membranes. *AJKD* 2002;39:266-73.
100. Schindler R, Beck W, Deppisch R, Aussieker M, Wilde A, Göhl H, Frei U. Short bacterial DNA fragments: detection in dialysate and induction of cytokines. *JASN* 2004;15:3207-14.
  101. Panichi V, Paoletti S, Consani C. Inflammatory pattern in hemodiafiltration. *Contrib Nephrol.* 2008;161:185–90.
  102. Woffindin C, Hoenich NA. Blood-membrane interactions during haemodialysis with cellulose and synthetic membranes. *Biomaterials.* 1988;9:53-7.
  103. Ogata S, Naito T, Yorioka N, Kiribayashi K, Kuratsune M, Kohno N. Effect of lactate and bicarbonate on human peritoneal mesothelial cells, fibroblasts and vascular endothelial cells, and the role of basic fibroblast growth factor. *Nephrol Dial Transplant.* 2004;19:2831-7.
  104. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Eng J Med.* 1999;340:115-26.
  105. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995;91:2844- 50.
  106. Bonomini M, Reale M, Santarelli P, Stuard S, Settefrati N, Albertazzi A. Serum levels of soluble adhesion molecules in chronic renal failure and dialysis patients. *Nephron.* 1998;79:399-407.
  107. Torzewski J, Torzewski M, Bowyer DE, Fröhlich M, Koenig W, Waltenberger J, Fitzsimmons C, Hombach V. C-reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:1386-92.
  108. Stenvinkel P, Zoccali C, Ikizler TA. Obesity in CKD-what should nephrologists know? *JASN* 2013;24:1727-36.
  109. Kalantar-Zadeh K, Block G, Humphreys MH, Kopple JD. Reverse epidemiology of cardiovascular risk factors in maintenance dialysis patients. *Kidney Int.* 2003;63:793-808.
  110. Stenvinkel P, Gillespie IA, Tunks J, Addison J, Kronenberg F, Drueke TB, Marcelli D, Scherthaner G, Eckardt KU, Floege J, Froissart M, Anker SD; ARO Steering Committee. Inflammation Modifies the Paradoxical Association between Body Mass Index and Mortality in Hemodialysis Patients. *JASN* 2016;27(5):1479-86.
  111. Gullestad L, Ueland T, Vinge LE, Finsen A, Yndestad A, Aukrust P. Inflammatory cytokines in heart failure: mediators and markers. *Cardiology.* 2012;122:23-35.
  112. Wang AY, Wang M, Woo J, Lam CW, Lui SF, Li PK, Sanderson JE. Inflammation, residual kidney function, and cardiac hypertrophy are interrelated and combine adversely to enhance mortality and cardiovascular death risk of peritoneal dialysis patients. *JASN* 2004;15:2186-94.
  113. Lappegard KT, Bjornstad H, Mollnes TE, Hovland A. Effect of Cardiac Resynchronization Therapy on Inflammation in Congestive Heart Failure: A Review. *Scand J Immunol.* 2015;82:191-8.
  114. Bozkurt B, Kribbs SB, Clubb FJ, Jr., Michael LH, Didenko VV, Hornsby PJ, Seta Y, Oral H, Spinale FG, Mann DL. Pathophysiologically relevant concentrations of tumor necrosis factor-alpha promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats. *Circulation* 1998;97:1382-91.
  115. Mann DL. Inflammatory mediators and the failing heart: past, present, and the foreseeable future. *Circ Res* 2002;91:988-98.
  116. Chang HR, Bistrian B. The role of cytokines in the catabolic consequences of infection and injury. *JPEN* 1998;22:156-66.

117. Humphries SE, Luong LA, Ogg MS, Hawe E, Miller GJ. The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *Eur Heart J.* 2001;22:2243-52.
118. Spoto B, Mattace-Raso F, Sijbrands E, Leonardis D, Testa A, Pisano A, Pizzini P, Cutrupi S, Parlongo RM, D'Arrigo G, Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C. Association of IL-6 and a Functional Polymorphism in the IL-6 Gene with Cardiovascular Events in Patients with CKD. *CJASN* 2015;10:232-40.
119. Carrero JJ, Yilmaz MI, Lindholm B, Stenvinkel P. Cytokine dysregulation in chronic kidney disease: how can we treat it? *Blood Purif.* 2008;26:291-9.
120. Kalantar-Zadeh K, Cano NJ, Budde K, Chazot C, Kovesdy CP, Mak RH, Mehrotra R, Raj DS, Sehgal AR, Stenvinkel P, Ikizler TA. Diets and enteral supplements for improving outcomes in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2011;7:369–84.
121. Vertolli U, Davis PA, Maso LD, Maiolino G, Naso A, Plebani M, Calò LA. Daily green tea extract supplementation reduces prothrombotic and inflammatory states in dialysis patients. *J Funct Foods.* 2013;5:1366–71.
122. Fanti P, Asmis R, Stephenson TJ, Sawaya BP, Franke AA. Positive effect of dietary soy in ESRD patients with systemic inflammation – correlation between blood levels of the soy isoflavones and the acute-phase reactants. *Nephrol Dial Transplant.* 2006;21(8):2239-46.
123. Shema-Didi L, Kristal B, Ore L, Shapiro G, Geron R, Sela S. Pomegranate juice intake attenuates the increase in oxidative stress induced by intravenous iron during hemodialysis. *Nutr Res.* 2013;33:442–6.
124. Miraghajani MS, Esmailzadeh A, Najafabadi MM, Mirlohi M, Azadbakht L. Soy milk consumption, inflammation, coagulation, and oxidative stress among type 2 diabetic patients with nephropathy. *Diabetes Care.* 2012; 35:1981–5.
125. Krishnamurthy VM, Wei G, Baird BC, Murtaugh M, Chonchol MB, Raphael KL, Greene T, Beddhu S. High dietary fiber intake is associated with decreased inflammation and all-cause mortality in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2012;81:300-6.
126. Wei M, Wang Z, Liu H, Jiang H, Wang M, Liang S, Shi K, Feng J. Probiotic *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bi-07 alleviates bacterial translocation and ameliorates microinflammation in experimental uraemia. *Nephrology (Carlton)* 2014;19:500-6.
127. Natarajan R, Pechenyak B, Vyas U, Ranganathan P, Weinberg A, Liang P, Mallappallil MC, Norin AJ, Friedman EA, Saggi SJ. Randomized controlled trial of strain-specific probiotic formulation (Renadyl) in dialysis patients. *Biomed Res Int.* 2014;2014:568571.
128. Carney EF. Chronic kidney disease. Walking reduces inflammation in predialysis CKD. *Nat Rev Nephrol.* 2014;10:300.
129. Viana JL, Kosmadakis GC, Watson EL, Bevington A, Feehally J, Bishop NC, Smith AC. Evidence for anti-inflammatory effects of exercise in CKD. *JASN* 2014;25:2121-30.
130. Deng J, Wu Q, Liao Y, Huo D, Yang Z. Effect of statins on chronic inflammation and nutrition status in renal dialysis patients: a systematic review and meta-analysis. *Nephrology (Carlton)* 2012;17:545–51.
131. de Vinuesa SG, Goicoechea M, Kanter J, Puerta M, Cachofeiro V, Lahera V, Gomez-Campera F, Luno J. Insulin resistance, inflammatory biomarkers, and adipokines in patients with chronic kidney disease: effects of angiotensin II blockade. *JASN* 2006; 17:S206-12.

132. Oparil S. Low sodium intake – cardiovascular health benefit or risk? *N Engl J Med* 2014;371: 677-9.
133. Campbell KL, Johnson DW, Bauer JD, Hawley CM, Isbel NM, Stowasser M, Whitehead JP, Dimeski G, McMahon E. A randomized trial of sodium-restriction on kidney function, fluid volume and adipokines in CKD patients. *BMC Nephrol* 2014;15:57.
134. Santoro A, Mancini E. Is hemodiafiltration the technical solution to chronic inflammation affecting hemodialysis patients? *Kidney Int.* 2014;86:235-7.
135. Susantitaphong P, Riella C, Jaber BL. Effect of ultrapure dialysate on markers of inflammation, oxidative stress, nutrition and anemia parameters: a meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2013;28:438–46.
136. Ayus JC, Mizani MR, Achinger SG, Thadhani R, Go AS, Lee S. Effects of short daily versus conventional hemodialysis on left ventricular hypertrophy and inflammatory markers: a prospective, controlled study. *JASN* 2005;16:2778–88.
137. Susantitaphong P, Koulouridis I, Balk EM, Madias NE, Jaber BL. Effect of frequent or extended hemodialysis on cardiovascular parameters: a meta-analysis. *AJKD* 2012;59:689–99.
138. den Hoedt CH, Bots ML, Grooteman MP, van der Weerd NC, Mazairac AH, Penne EL, Levesque R, ter Wee PM, Nube MJ, Blankestijn PJ, van den Dorpel MA. Online hemodiafiltration reduces systemic inflammation compared to low-flux hemodialysis. *Kidney Int.* 2014;86:423–32.
139. Panichi V, Rizza GM, Paoletti S, Bigazzi R, Aloisi M, Barsotti G, Rindi P, Donati G, Antonelli A, Panicucci E, Tripepi G, Tetta C, Palla R. Chronic inflammation and mortality in haemodialysis: effect of different renal replacement therapies. Results from the RISCAVID study. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23:2337–43.
140. Small DM, Gobe GC. Oxidative Stress and Antioxidant Therapy in Chronic Kidney and Cardiovascular Disease, Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants. 2013. InTech.
141. Gomes P, Simao S, Silva E, Pinto V, Amaral JS, Afonso J, Serrão MP, Pinho MJ, Soares-da-Silva P. Aging increases oxidative stress and renal expression of oxidant and antioxidant enzymes that are associated with an increased trend in systolic blood pressure. *Oxid Med Cell Longev.* 2009;2(3):138-45.
142. Soubannier V, McBride HM. Positioning mitochondrial plasticity within cellular signaling cascades. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1793(1):154-70.
143. Cadenas E, Davies KJ. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med.* 2000;29(3-4):222-30.
144. Lipinski B. Is it oxidative stress or free radical stress and why does it matter? *Oxid Antioxid Med Sci.* 2012;1(1):5-9.
145. Granata S, Zaza G, Simone S, Villani G, Latorre D, Pontrelli P, Carella M, Schena FP, Grandaliano G, Pertosa G. Mitochondrial dysregulation and oxidative stress in patients with chronic kidney disease. *BMC Genomics.* 2009;10:388.
146. Nemoto S, Takeda K, Yu ZX, Ferrans VJ, Finkel T. Role for mitochondrial oxidants as regulators of cellular metabolism. *Mol Cell Biol.* 2000;20(19):7311-8.
147. Lepenies J, Hewison M, Stewart PM, Quinkler M. Renal PPARgamma mRNA expression increases with impairment of renal function in patients with chronic kidney disease. *Nephrology.* 2010;15(7):683-91.
148. Sakamoto A, Hongo M, Saito K, Nagai R, Ishizaka N. Reduction of renal lipid content and proteinuria by a PPAR-gamma agonist in a rat model of angiotensin II-induced hypertension. *Eur J Pharmacol.* 2012;682(1-3):131-6.



149. Funk JA, Odejinmi S, Schnellmann RG. SRT1720 induces mitochondrial biogenesis and rescues mitochondrial function after oxidant injury in renal proximal tubule cells. *J Pharmacol Exp Therapeut.* 2010;333(2):593-601.
150. Nelson SK, Bose SK, Grunwald GK, Myhill P, McCord JM. The induction of human superoxide dismutase and catalase in vivo: a fundamentally new approach to antioxidant therapy. *Free Radic Biol Med.* 2006;40(2):341-7.
151. Meng Q, Wong YT, Chen J, Ruan R. Age-related changes in mitochondrial function and antioxidative enzyme activity in fischer 344 rats. *Mech Ageing Dev.* 2007;128(3):286-92.
152. Godoy JR, Oesteritz S, Hanschmann EM, Ockenga W, Ackermann W, Lillig CH. Segment-specific overexpression of redoxins after renal ischemia and reperfusion: protective roles of glutaredoxin 2, peroxiredoxin 3, and peroxiredoxin 6. *Free Radic Biol Med.* 2011;51(2):552-61.
153. Lillig CH, Holmgren A. Thioredoxin and related molecules--from biology to health and disease. *Antioxid Redox Signal.* 2007;9(1):25-47.
154. Soderdahl T, Enoksson M, Lundberg M, Holmgren A, Ottersen OP, Orrenius S, Bolcsfoldi G, Cotgreave IA. Visualization of the compartmentalization of glutathione and protein-glutathione mixed disulfides in cultured cells. *FASEB J.* 2003;17(1):124-6.
155. Lash LH, Putt DA, Matherly LH. Protection of NRK-52E cells, a rat renal proximal tubular cell line, from chemical induced apoptosis by overexpression of a mitochondrial glutathione transporter. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002;303(2):476-86.
156. Filiopoulos V, Hadjiyannakos D, Vlassopoulos D. New Insight into Uric Acid Effects on the Progression and Prognosis of Chronic Kidney Disease. *Renal Failure* 2012;34(4):510-20.
157. Johnson RJ, Kang DH, Feig D, Kivlighn S, Kanellis J, Watanabe S, Tuttle KR, Rodriguez-Iturbe B, Herrera-Acosta J, Mazzali M. Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? *JASN* 2003;41:1183-90.
158. Kuzkaya N, Weissmann N, Harrison DG, Dikalov S. Interactions of peroxynitrite with uric acid in the presence of ascorbate and thiols: Implications for uncoupling endothelial nitric oxide synthase. *Biochem Pharmacol.* 2005;70:343-54.
159. Hink HU, Santanam N, Dikalov S, McCann L, Nguyen AD, Parthasarathy S, Harrison DG, Fukai T. Peroxidase properties of extracellular superoxide dismutase: Role of uric acid in modulating in vivo activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:1402-8.
160. Nakagawa T, Kang DH, Feig D, Sanchez-Lozada LG, Srinivas TR, Sautin Y, Ejaz AA, Segal M, Johnson RJ. Unearthing uric acid: An ancient factor with recently found significance in renal and cardiovascular disease. *Kidney Int.* 2006;69:1722-5.
161. Nakagawa T, Mazzali M, Kang DH, Sanchez-Lozada LG, Herrera-Acosta J, Johnson RJ. Uric acid: A uremic toxin? *Blood Purif.* 2006;24:67-70.
162. Kang DH, Park SK, Lee IK, Johnson RJ. Uric acid induced C-reactive protein (CRP) expression: Implication on cell proliferation and nitric oxide production in human vascular cells. *JASN* 2005;16:3553-62.
163. Glinsberg MH, Kozin F, O'Malley M, McCarty DJ. Release of platelet constituents by monosodium urate crystals. *J Clin Invest.* 1997;60:999-1007.
164. Feig D, Mazzali M, Kang DH, Nakagawa T, Price K, Kannelis J, Johnson RJ. Serum uric acid: A risk factor and a target for treatment? *JASN* 2006;17:69-73.
165. Feig D, Kang DH, Johnson RJ. Uric acid and cardiovascular risk. *N Eng J Med.* 2008;359:1811-21.

166. Johnson RJ, Kivlighn SD, Kim Y-G, Suga S, Fogo AB. Reappraisal of the pathogenesis and consequences of hyperuricemia in hypertension, cardiovascular and renal disease. *AJKD* 1999;33:225–34.
167. Neri L, Rocca Rey LA, Lentine KL, Hinyard LJ, Pinsky B, Xiao H, Dukes J, Schnitzler MA. Joint association of hyperuricemia and reduced GFR on cardiovascular morbidity: A historical cohort study based on laboratory and claims data from a national insurance provider. *AJKD* 2011;58:398–408.
168. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol.* 2004;142(2):231-55.
169. Ramos LF, Kane J, McMonagle E, Le P, Wu P, Shintani A, Ikizler TA, Himmelfarb J. Effects of combination tocopherols and alpha lipoic acid therapy on oxidative stress and inflammatory biomarkers in chronic kidney disease. *J Ren Nutr.* 2011;21(3):211-8.
170. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell Mol Life Sci.* 2003;60(1):6-20.
171. Zhang F, Lau SS, Monks TJ. The cytoprotective effect of N-acetyl-L-cysteine against ROS-induced cytotoxicity is independent of its ability to enhance glutathione synthesis. *Toxicol Sci.* 2011 Mar;120(1):87-97.
172. Coombes JS, Fassett RG. Antioxidant therapy in hemodialysis patients: a systematic review. *Kidney Int.* 2012;81(3):233-46.
173. Crespo MJ, Cruz N, Altieri PI, Escobales N. Chronic treatment with N-acetylcysteine improves cardiac function but does not prevent progression of cardiomyopathy in Syrian cardiomyopathic hamsters. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2011;16(2):197-204.
174. Tumor Z, Shimizu H, Enomoto A, Miyazaki H, Niwa T. Indoxyl sulfate upregulates expression of ICAM-1 and MCP-1 by oxidative stress-induced NF-kappaB activation. *Am J Nephrol.* 2010;31(5):435-41.
175. Serbinova E, Kagan V, Han D, Packer L. Free radical recycling and intramembrane mobility in the antioxidant properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol. *Free Radic Biol Med.* 1991;10(5):263-75.
176. Fujisawa S, Ishihara M, Atsumi T, Kadoma Y. A quantitative approach to the free radical interaction between alpha-tocopherol or ascorbate and flavonoids. *In Vivo.* 2006;20(4):445-52.
177. Guo Q, Packer L. Ascorbate-dependent recycling of the vitamin E homologue Trolox by dihydrolipoate and glutathione in murine skin homogenates. *Free Radic Biol Med.* 2000;29(3-4):368-74.
178. Schaaf GJ, Maas RF, de Groene EM, Fink-Gremmels J. Management of oxidative stress by heme oxygenase-1 in cisplatin-induced toxicity in renal tubular cells. *Free Radic Res.* 2002;36(8):835-43.
179. Klein EA, Thompson IM, Jr, Tangen CM, Crowley JJ, Lucia MS, Goodman PJ, Minasian LM, Ford LG, Parnes HL, Gaziano JM, Karp DD, Lieber MM, Walther PJ, Klotz L, Parsons JK, Chin JL, Darke AK, Lippman SM, Goodman GE, Meyskens FL Jr, Baker LH. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA.* 2011;306(14):1549-56.
180. Yang SK, Xiao L, Xu B, Xu XX, Liu FY, Sun L. Effects of vitamin E-coated dialyzer on oxidative stress and inflammation status in hemodialysis patients: a systematic review and meta-analysis. *Ren Fail.* 2014;36:722–31.
181. Frei B, Kim MC, Ames BN. Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(12):4879-83.

182. Huynh K, Kiriazis H, Du XJ, Love JE, Jandeleit-Dahm KA, Forbes JM, McMullen JR, Ritchie RH. Coenzyme Q10 attenuates diastolic dysfunction, cardiomyocyte hypertrophy and cardiac fibrosis in the db/db mouse model of type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2012;55(5):1544-53.
183. Dendooven A, Ishola DA, Jr., Nguyen TQ, Van der Giezen DM, Kok RJ, Goldschmeding R, Joles JA. Oxidative stress in obstructive nephropathy. *Int J Exp Pathol*. 2011;92(3):202-10.
184. Arab K, Rossary A, Flourie F, Tourneur Y, Steghens JP. Docosahexaenoic acid enhances the antioxidant response of human fibroblasts by upregulating gamma-glutamylcysteinyl ligase and glutathione reductase. *Br J Nutr*. 2006;95(1):18-26.
185. Guebre-Egziabher F, Debarde C, Draï J, Denis L, Pesenti S, Bienvenu J, Vidal H, Laville M, Fouque D. Differential dose effect of fish oil on inflammation and adipose tissue gene expression in chronic kidney disease patients. *Nutrition* 2013;29:730-6.
186. An WS, Kim HJ, Cho KH, Vaziri ND. Omega-3 fatty acid supplementation attenuates oxidative stress, inflammation, and tubulointerstitial fibrosis in the remnant kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2009;297(4):F895-903.
187. Peake JM, Gobe GC, Fassett RG, Coombes JS. The effects of dietary fish oil on inflammation, fibrosis and oxidative stress associated with obstructive renal injury in rats. *Mol Nutr Food Res*. 2011;55(3):400-10.
188. Bouzidi N, Mekki K, Boukaddoum A, Dida N, Kaddous A, Bouchenak M. Effects of omega-3 polyunsaturated fatty-acid supplementation on redox status in chronic renal failure patients with dyslipidemia. *J Ren Nutr*. 2010;20(5):321-8.
189. Cohen MG, Rossi JS, Garbarino J, Bowling R, Motsinger-Reif AA, Schuler C, Dupont AG, Gabriel D. Insights into the inhibition of platelet activation by omega-3 polyunsaturated fatty acids: Beyond aspirin and clopidogrel. *Thromb Res*. 2011;128(4):335-40.
190. Woodman RJ, Mori TA, Burke V, Puddey IB, Watts GF, Beilin LJ. Effects of purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on glycemic control, blood pressure, and serum lipids in type 2 diabetic patients with treated hypertension. *AJCN* 2002;76(5):1007-15.
191. Matsumoto T, Nakayama N, Ishida K, Kobayashi T, Kamata K. Eicosapentaenoic acid improves imbalance between vasodilator and vasoconstrictor actions of endothelium-derived factors in mesenteric arteries from rats at chronic stage of type 2 diabetes. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009;329(1):324-34.
192. Riegersperger M, Covic A, Goldsmith D. Allopurinol, uric acid, and oxidative stress in cardiorenal disease. *Int Urol Nephrol*. 2011;43(2):441-9.
193. Goicoechea M, de Vinuesa SG, Verdalles U, Ruiz-Caro C, Ampuero J, Rincon A, Arroyo D, Luño J. Effect of allopurinol in chronic kidney disease progression and cardiovascular risk. *CJASN* 2010;5(8):1388-93.
194. Shelmadine B, Bowden RG, Wilson RL, Beavers D, Hartman J. The effects of lowering uric acid levels using allopurinol on markers of metabolic syndrome in end-stage renal disease patients: a pilot study. *Anadolu Kardiyol Derg*. 2009;9(5):385-9.
195. Pergola PE, Krauth M, Huff JW, Ferguson DA, Ruiz S, Meyer CJ, Warnock DG. Effect of bardoxolone methyl on kidney function in patients with T2D and Stage 3b-4 CKD. *Am J Nephrol*. 2011;33(5):469-76.
196. Honda T, Yoshizawa H, Sundararajan C, David E, Lajoie MJ, Favaloro FG, Jr, Janosik T, Su X, Honda Y, Roebuck BD, Gribble GW. Tricyclic compounds containing nonenolizable cyano enones. A novel class of highly potent anti-inflammatory and cytoprotective agents. *J Med Chem*. 2011;54(6):1762-78.

197. Nagaraj S, Youn JI, Weber H, Iclozan C, Lu L, Cotter MJ, Meyer C, Becerra CR, Fishman M, Antonia S, Sporn MB, Liby KT, Rawal B, Lee JH, Gabrilovich DI. Anti-inflammatory triterpenoid blocks immune suppressive function of MDSCs and improves immune response in cancer. *Clin Cancer Res.* 2010;16(6):1812-23.
198. Chin MP, Reisman SA, Bakris GL, O'Grady M, Linde PG, McCullough PA, Packham D, Vaziri ND, Ward KW, Warnock DG, Meyer CJ. Mechanisms Contributing to Adverse Cardiovascular Events in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Stage 4 Chronic Kidney Disease Treated with Bardoxolone Methyl. *Am J nephrol* 2014;39:499-508.
199. Kelly GS. L-Carnitine: therapeutic applications of a conditionally-essential amino acid. *Altern Med Rev.* 1998;3(5):345-60.
200. Fouque D, Holt S, Guebre-Egziabher F, Nakamura K, Vianey-Saban C, Hadj-Aissa A, Hoppel CL, Kopple JD. Relationship between serum carnitine, acylcarnitines, and renal function in patients with chronic renal disease. *J Ren Nutr.* 2006;16(2):125-31.
201. Eknoyan G, Latos DL, Lindberg J. Practice recommendations for the use of L-carnitine in dialysis-related carnitine disorder. National Kidney Foundation Carnitine Consensus Conference. *AJKD* 2003;41(4):868-76.
202. Sakurabayashi T, Miyazaki S, Yuasa Y, Sakai S, Suzuki M, Takahashi S, Hirasawa Y. L-carnitine supplementation decreases the left ventricular mass in patients undergoing hemodialysis. *Circ J.* 2008;72(6):926-31.
203. Signorelli SS, Fatuzzo P, Rapisarda F, Neri S, Ferrante M, Oliveri Conti G, Fallico R, Di Pino L, Pennisi G, Celotta G, Anzaldi M. Propionyl-L-carnitine therapy: effects on endothelin-1 and homocysteine levels in patients with peripheral arterial disease and end-stage renal disease. *Kidney Blood Pressure Res.* 2006;29(2):100-7.
204. Ye J, Li J, Yu Y, Wei Q, Deng W, Yu L. L-carnitine attenuates oxidant injury in HK-2 cells via ROS-mitochondria pathway. *Regul Pept.* 2010;161(1-3):58-66.
205. Reyes AA, Karl IE, Klahr S. Role of arginine in health and in renal disease. *Am J Physiol.* 1994;267(3 Pt 2):F331-46.
206. Stuehr DJ. Enzymes of the L-arginine to nitric oxide pathway. *J Nutr.* 2004;134(10):2748S-2751S.
207. Rajapakse NW, Kuruppu S, Hanchapola I, Venardos K, Mattson DL, Smith AI, Kaye DM, Evans RG. Evidence that renal arginine transport is impaired in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2012;302(12):F1554-62.
208. Huang CC, Tsai SC, Lin WT. Potential ergogenic effects of L-arginine against oxidative and inflammatory stress induced by acute exercise in aging rats. *Exp Gerontol.* 2008;43(6):571-7.
209. Longenecker JC, Coresh J, Powe NR, Levey AS, Fink NE, Martin A, Klag MJ. Traditional cardiovascular disease risk factors in dialysis patients compared with the general population: the CHOICE Study. *JASN* 2002;13:1918-27.
210. Luksha L, Stenvinkel P, Hammarqvist F, Carrero JJ, Davidge ST, Kublickiene K. Mechanisms of endothelial dysfunction in resistance arteries from patients with endstage renal disease. *PloS one* 2012;7:e36056.
211. London GM, Guerin AP, Marchais SJ, Metivier F, Pannier B, Adda H. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18:1731-40.
212. Tripepi G, Mattace Raso F, Sijbrands E, Seck MS, Maas R, Boger R, Witteman J, Rapisarda F, Malatino L, Mallamaci F, Zoccali C. Inflammation and asymmetric dimethylarginine for predicting death and cardiovascular events in ESRD patients. *CJASN* 2011;6:1714-21.

213. Wing MR, Ramezani A, Gill HS, Devaney JM, Raj DS. Epigenetics of Progression of Chronic Kidney Disease: Fact or Fantasy? *Semin Nephrol.* 2013;33(4):363-74
214. Dong C, Yoon W, Goldschmidt-Clermont PJ. DNA methylation and atherosclerosis. *J Nutr.* 2002;132:2406S-2409S.
215. Stenvinkel P, Karimi M, Johansson S, Axelsson J, Suliman M, Lindholm B, Heimbürger O, Barany P, Alvestrand A, Nordfors L, Qureshi AR, Ekström TJ, Schalling M. Impact of inflammation on epigenetic DNA methylation - a novel risk factor for cardiovascular disease? *J Intern Med.* 2007;261:488-99.
216. Sigrist M, Bungay P, Taal MW, McIntyre CW. Vascular calcification and cardiovascular function in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2006;21:707-14.
217. Ketteler M, Wanner C, Metzger T, Bongartz P, Westenfeld R, Gladziwa U, Schurgers LJ, Vermeer C, Jahnke-Dechent W, Floege J. Deficiencies of calcium-regulatory proteins in dialysis patients: a novel concept of cardiovascular calcification in uremia. *Kidney Int Suppl.* 2003:S84-7.
218. Smith ER, Cai MM, McMahon LP, Pedagogos E, Toussaint ND, Brumby C, Holt SG. Serum fetuin-A concentration and fetuin-A-containing calciprotein particles in patients with chronic inflammatory disease and renal failure. *Nephrology (Carlton)* 2013;18:215-21.
219. Bessueille L, Magne D. Inflammation: a culprit for vascular calcification in atherosclerosis and diabetes. *CMLS* 2015;72:2475- 89.
220. Moe SM, O'Neill KD, Duan D, Ahmed S, Chen NX, Leapman SB, Fineberg N, Kopecky K. Medial artery calcification in ESRD patients is associated with deposition of bone matrix proteins. *Kidney Int.* 2002;61:638- 47.
221. Yamada S, Tokumoto M, Tatsumoto N, Taniguchi M, Noguchi H, Nakano T, Masutani K, Ooboshi H, Tsuruya K, Kitazono T. Phosphate overload directly induces systemic inflammation and malnutrition as well as vascular calcification in uremia. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2014;306:F1418-28.
222. Qureshi AR, Alvestrand A, Danielsson A, Divino-Filho JC, Gutierrez A, Lindholm B, Bergström J. Factors predicting malnutrition in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *Kidney Int.* 1998;53:773-82.
223. Wang AY, Woo J, Lam CW, Wang M, Chan IH, Gao P, Lui SF, Li PK, Sanderson JE. Associations of serum fetuin-A with malnutrition, inflammation, atherosclerosis and valvular calcification syndrome and outcome in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2005;20:1676-85.
224. Demirci MS, Demirci C, Ozdogan O, Kircelli F, Akcicek F, Basci A, Ok E, Ozkahya M. Relations between malnutrition-inflammation atherosclerosis and volume status. The usefulness of bioimpedance analysis in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26:1708-16.
225. Mikolasevic I, Stimac D, Racki S, Zaputovic L, Devcic B, Jelic I, Lukenda V, Radic M, Orlic L. Relationship between non-alcoholic fatty liver disease and MIA syndrome. *Hemodial Int* 2015;19:472-81.
226. Heaf J. High transport and malnutrition-inflammation-atherosclerosis (MIA) syndrome. *Perit Dial Int.* 2003;23:109-10.
227. Aguilera A, Gonzalez-Espinoza L, Codoceo R, Jara Mdel C, Pavone M, Bajo MA, Del Peso G, Celadilla O, Martínez MV, López-Cabrera M, Selgas R. Bowel bacterial overgrowth as another cause of malnutrition, inflammation, and atherosclerosis syndrome in peritoneal dialysis patients. *Adv Perit Dial.* 2010;26:130-6.

228. Simic Ogrizovic S, Jovanovic D, Dopsaj V, Radovic M, Sumarac Z, Bogavac Stanojevic N, Stosovic M, Stanojevic M, Nestic V. Could depression be a new branch of MIA syndrome? *Clin Nephrol.* 2009;71:164-72.
229. Hwang JH, Ryu J, An JN, Kim CT, Kim H, Yang J, Ha J, Chae DW, Ahn C, Jung IM, Oh YK, Lim CS, Han DJ, Park SK, Kim YS, Kim YH, Lee JP. Pretransplant malnutrition, inflammation, and atherosclerosis affect cardiovascular outcomes after kidney transplantation. *BMC Nephrol.* 2015;16:109.
230. Machowska A, Carrero JJ, Lindholm B, Stenvinkel P. Therapeutics targeting persistent inflammation in chronic kidney disease. *Transl Res.* 2016;167:204-13.
231. Kalantar-Zadeh K, Kopple J, Block G, Humphreys. A Malnutrition-Inflammation Score Is Correlated With Morbidity and Mortality in Maintenance Hemodialysis Patients. *AJKD* 2001;38(6):1251-63.
232. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci (Lond).* 1993;84:407-412.
233. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38:1103-11.
234. Hamidi Alamdari D, Paletas K, Pegiou T, Sarigianni M, Befani C, Koliakos G. A novel assay for the evaluation of prooxidant-antioxidant balance, before and after antioxidant vitamin administration in type II diabetes patients. *Clinic Biochem.* 2007;40:248-54.
235. Pearson TA, Mensah GA, Hong Y, Smith SC Jr; CDC; AHA. CDC/AHA workshop on markers of inflammation and cardiovascular disease: Application to clinical and public health practice: overview. *Circulation.* 2004;110:e543-4.
236. World Health Organisation. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. 2000. *World Health Organ Tech Rep Ser* 894: i-xii, 1-253.
237. Agarwal R, Bills JE, Light RP. Diagnosing obesity by body mass index in chronic kidney disease: An explanation for the “obesity paradox?” *Hypertension* 2010;56: 893-900.
238. Bašić-Jukić N, Rački S, Kes P, Pavić E, Uroić V, Gluhak D, Mesarić N. Prehrana bolesnika koji se liječe nadomještanjem bubrežne funkcije. Hrvatsko društvo za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju Hrvatskog liječničkog zbora.
239. Zoccali C, Torino C, Tripepi G, Mallamaci F. Assessment of obesity in chronic kidney disease: What is the best measure? *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2012;21: 641-6.
240. Velludo CM, Kamimura MA, Sanches FM, Lemos MM, Canziani ME, Pupim LB, Draibe SA, Cuppari L. Prospective evaluation of waist circumference and visceral adipose tissue in patients with chronic kidney disease. *Am J Nephrol* 2010;31:104-9.
241. Silva M, Vale B, Lemos C, Torres M, Bregman R. Body adiposity index assess body fat with high accuracy in nondialyzed chronic kidney disease patients. *Obesity (Silver Spring).* 2012; 21:546-52.
242. Honda H, Qureshi AR, Axelsson J, Heimbürger O, Suliman ME, Barany P, Stenvinkel P, Lindholm B. Obese sarcopenia in patients with end-stage renal disease patients is associated with inflammation and increased mortality. *AJCN* 2007;86: 633-8.
243. Axelsson J, Rashid Qureshi A, Suliman ME, Honda H, Pecoits-Filho R, Heimbürger O, Lindholm B, Cederholm T, Stenvinkel P. Truncal fat mass as a contributor to inflammation in end-stage renal disease. *AJCN* 2004;80:1222-9.

244. Gohda T, Gotoh H, Tanimoto M, Sato M, Io H, Kaneko K, Hamada C, Tomino Y. Relationship between abdominal fat accumulation and insulin resistance in hemodialysis patients. *Hypertens Res.* 2008;31:83-8.
245. Odamaki M, Furuya R, Kinumura Y, Ikegaya N, Kumagai H. Association between plasma adiponectin concentration and visceral fat accumulation in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract.* 2006;102:c8-13.
246. Odamaki M, Furuya R, Ohkawa S et al. Altered abdominal fat distribution and its association with the serum lipid profile in non-diabetic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 1999;14:2427–32.
247. Ramos LF, Shintani A, Ikizler TA, Himmelfarb J. Oxidative stress and inflammation are associated with adiposity in moderate to severe CKD. *JASN* 2008;19:593-9.
248. Stenvinkel P, Lindholm B. Resolved: being fat is good for dialysis patients: the Godzilla effect: con. *JASN* 2008;19:1062-4.
249. Zoccali C. The obesity epidemics in ESRD: from wasting to waist? *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24:376–80.
250. Kramer H, Tuttle KR, Leehey D, Luke A, Durazo-Arvizu R, Shoham D, Cooper R, Beddhu S. Obesity management in adults with CKD. *AJKD* 2009; 53:151–65.
251. Sharma D, Hawkins M, Abramowitz MK. Association of sarcopenia with eGFR and misclassification of obesity in adults with CKD in the United States. *CJAMS* 2014;9:2079–88.
252. Evans PD, McIntyre NJ, Fluck, RJ, McIntyre CW, Taal MW. Anthropomorphic measurements that include central fat distribution are more closely related with key risk factors than BMI in CKD stage 3. *PLoS One* 2012;7(4):e34699.
253. Menzaghi C, Bacci S, Salvemini L, Mendonca C, Palladino G, Fontana A, De bonis C, Marucci A, Goheen E, Prudente S, Morini E, Rizza S, Fini G, Mangiacotti D, Federici M, De Cosmo S, Pellegrini F, Doria A, Trischitta V. Serum Resistin, Cardiovascular Disease and All-Cause Mortality in Patients with Type 2 Diabetes. *PLoS One* 2013;8(6):e64729.
254. Lee SH, Ha JW, Kim JS, Choi EY, Park S, Kang SM, Choi D, Jang Y, Chung N. Plasma adiponectin and resistin levels as predictors of mortality in patients with acute myocardial infarction: data from infarction prognosis study registry. *Coron Artery Dis.* 2009;20(1):33-9.
255. Bazeley J, Bierber B, Li Y, Morgenstern H, de Sequera P, Combe C, Yamamoto H, Gallagher M, Port FK, Robinson BM. C-reactive protein and prediction of 1-year mortality in prevalent hemodialysis patients. *CJASN* 2011;6:2452–61.
256. Menon V, Greene T, Wang X, Pereira AA, Marcovina SM, Beck GJ, Kusek JW, Collins AJ, Levey AS, Sarnak MJ. C-reactive protein and albumin as predictors of all-cause and cardiovascular mortality in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2005;68:766–72.
257. Zoccali C, Tripepi G, Mallamaci F. Dissecting Inflammation in ESRD: Do Cytokines and C-Reactive Protein Have a Complementary Prognostic Value for Mortality in Dialysis Patients? *JASN* 2006;17:S169-73.
258. Panichi V, Maggiore U, Taccola D, Migliori M, Manca Rizza G, Consani C, Bertini A, Sposini S, Perez-Garcia R, Rindi P, Palla R, Tetta C. Interleukin-6 is a stronger predictor of total and cardiovascular mortality than C-reactive protein in haemodialysis patients, *Nephrol Dial Transplant.* 2004;19(5):1154–60.
259. Wollert KC, Drexler H. The role of interleukin-6 in the failing heart. *Heart Fail Rev.* 2001;6:95–103.
260. McInnes IB, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol.* 2007;7:429–42.

261. Choy EH, Kavanaugh AF, Jones SA. The problem of choice: current biologic agents and future prospects in RA. *Nat Rev Rheumatol.* 2013; 9:154–63.
262. Jones SA, Scheller J, Rose-John S. Therapeutic strategies for the clinical blockade of IL-6/gp130 signaling. *J Clin Invest.* 2011;121: 3375–83.
263. Jones SA, Fraser DJ, Fielding CA, Jones GW. Interleukin-6 in renal disease and therapy. *Nephrol Dial Transplant.* 2015;30(4):564–74.
264. Maeshima A, Nakasatomi M, Henmi D, Yamashita S, Kaneko Y, Kuroiwa T, Hiromura K, Nojima Y. Efficacy of tocilizumab, a humanized neutralizing antibody against interleukin-6 receptor, in progressive renal injury associated with Castleman's disease. *CEN Case Rep.* 2012;1:7–11.
265. Magro-Checa C, Navas-Parejo Casado A, Borrego-Garcia E, Raya-Álvarez E, Rosales-Alexander JL, Salvatierra J, Caballero-Morales T, Gómez-Morales M. Successful use of tocilizumab in a patient with nephrotic syndrome due to a rapidly progressing AA amyloidosis secondary to latent tuberculosis. *Amyloid* 2011;18:235–9.
266. Canas-Ventura A, Rodriguez E, Andreu M, Márquez L. Tocilizumab in amyloidosis-associated kidney disease secondary to inflammatory bowel diseases. *Dig Dis Sci.* 2013;58:2736–7.
267. Kao MPC, Ang DSC, Pall A, Struthers AD. Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options. *J Hum Hypertens.* 2010;24:1–8.
268. Mayer B, Zitta S, Greilberger J, Holzer H, Reibnegger G, Hermetter A, Oettl K. Effect of hemodialysis on the antioxidative properties of serum. *Biochim Biophys Acta.* 2003;1638:267–72.
269. Antunovic T, Stefanovic A, Ratkovic M, Gledovic B, Gligorovic Barhanovic N, Bozovic D, Ivanisevic J, Prostran M, Stojanov M. High uric acid and low superoxide dismutase as possible predictors of all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol.* 2013;45:1111-19.
270. Parizadeh SMR, Azarpazhooh MR, Moohebbati M, Nematy M, Ghayour-Mobarhan M, Tavallaie S, Rahsepar AA, Amini M, Sahebkar A, Mohammadi M, Ferns GA. Simvastatin therapy reduces prooxidant-antioxidant balance: results of a placebo-controlled cross-over trial. *Lipids.* 2011;46:333–40.
271. Pashkow FJ. Oxidative stress and inflammation in heart disease: do antioxidants have a role in treatment and/or prevention? *Int J Inflam.* 2011;2011:514623.
272. Small DM, Coombes JS, Bennett N, Johnson DW, Gobe GC. Oxidative stress, antioxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton).* 2012;17:311–21.
273. Suvakov S, Damjanovic T, Stefanovic A, Pekmezovic T, Savic-Radojevic A, Pljesa-Ercegovac M, Matic M, Djukic T, Coric V, Jakovljevic J, Ivanisevic J, Pljesa S, Jelic-Ivanovic Z, Mimic-Oka J, Dimkovic N, Simic T. Glutathione S-transferase A1, M1, P1 and T1 null or low-activity genotypes are associated with enhanced oxidative damage among haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2013;28:202–12.
274. Wratten ML, Tetta C, Ursini F, Sevanian A. Oxidant stress in hemodialysis: prevention and treatment strategies. *Kidney Int Suppl.* 2000;76:S126–32.
275. Feig DI, Kang D-H, Johnson RJ. Uric Acid and Cardiovascular Risk. *N Engl J Med* 2008;359(17):1811–21.
276. Hayden MR, Tyag SC. Uric acid: A new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: The urate redox shuttle. *Nutr Metab (Lond).* 2004;1(1):10.



277. Kurt Lee SM, Lee AL, Winters TJ, Tam E, Jaleel M, Stenvinkel P, Johnson RJ. Low Serum Uric Acid Level Is a Risk Factor for Death in Incident Hemodialysis Patients. *AMJN*. 2009; 29(2):79–85.
278. Hsu SP, Pai MF, Peng YS, Chiang CK, Ho TI, Hung KY. Serum uric acid levels show a 'J-shaped' association with all-cause mortality in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(2):457-62.
279. Beberashvili I, Sinuani I, Azar A, Shapiro G, Feldman L, Stav K, Sandbank J, Averbukh Z. Serum uric acid as a clinically useful nutritional marker and predictor of outcome in maintenance hemodialysis patients. *Nutrition* 2015;31:138–47.
280. de Oliveira EP, Moreto F, Silveira LV, Burini RC. Dietary, anthropometric, and biochemical determinants of uric acid in free-living adults. *Nutr J* 2013;12:11.
281. Young DO, Lund RJ, Haynatzki G, Dunlay RW. Prevalence of the metabolic syndrome in an incident dialysis population. *Hemodial Int*. 2007;11:86–95.
282. Kilpatrick R, McAllister CJ, Kovesdy CP, Derose SF, Kopple JD, Kalantar-Zadeh K. Association between serum lipids and survival in hemodialysis patients and impact of race. *JASN* 2007;18:293–307.
283. European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, Agewall S, Alegria E, Chapman MJ, Durrington P, Erdine S, Halcox J, Hobbs R, Kjekshus J, Filardi PP, Riccardi G, Storey RF, Wood D; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) 2008-2010 and 2010-2012 Committees. ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias. The task force for the management of dyslipidaemias of the European society of cardiology (ESC) and the European atherosclerosis society (EAS). *Eur Heart J*. 2011;32:1769–818.
284. Kaysen GA, Dubin JA, Muller HG, Mitch WE, Rosales LM, Levin NW. Relationships among inflammation, nutrition and physiologic mechanisms establishing albumin levels in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2002; 61:2240–9.
285. Kalantar-Zadeh K, Kilpatrick RD, Kuwae N, McAllister CJ, Alcorn Jr H, Kopple JD, Greenland S. Revisiting mortality predictability of serum albumin in the dialysis population: time dependency, longitudinal changes and population-attributable fraction. *Nephrol Dial Transplant*. 2005;20(9):1880-8.
286. Jurgens G, Muller M, Garidel P, Koch MH, Nakakubo H, Blume A, Brandenburg K. Investigation into the interaction of recombinant human serum albumin with re lipopolysaccharide and lipid A. *J Endotoxin Res*. 2002; 8:115–26.
287. Rauchhaus M, Coats AJ, Anker SD. The endotoxin–lipoprotein hypothesis. *Lancet*. 2000;356:930–3.
288. Xie Q, Zhou Y, Xu Z, Yang Y, Kuang D, You H, Ma S, Hao C, Gu Y, Lin S, Ding F. The ratio of CRP to prealbumin levels predict mortality in patients with hospital-acquired acute kidney injury. *BMC Nephrol*. 2011;12:30.
289. Myron Johnson A, Merlini G, Sheldon J, Ichihara K. Clinical indications for plasma protein assays: transthyretin (prealbumin) in inflammation and malnutrition. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45:419 –26.
290. Sreedhara R, Avram MM, Blanco M, Batish R, Avram MM, Mittman N. Prealbumin is the best nutritional predictor of survival in hemodialysis and peritoneal dialysis. *AJKD* 1996;28:937– 42.
291. Mittman N, Avram MM, Oo KK, Chattopadhyay J. Serum prealbumin predicts survival in hemodialysis and peritoneal dialysis: 10 years of prospective observation. *AJKD* 2001;38:1358 – 64.

292. Chertow GM, Goldstein-Fuchs DJ, Lazarus JM, Kaysen GA. Prealbumin, mortality, and cause-specific hospitalization in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2005;68:2794–800.
293. Rambod M, Kovesdy CP, Bross R, Kopple JD, Kalantar-Zadeh K. Association of serum prealbumin and its changes over time with clinical outcomes and survival in patients receiving hemodialysis. *AJCN* 2008;88:1485–94.
294. Hyung SJ, Deroo S, Robinson CV. Retinol and retinol-binding protein stabilize transthyretin via formation of retinol transport complex. *ACS Chem Biol.* 2010;5:1137–46.
295. Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, Kotani K, Quadro L, Kahn BB. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature.* 2005;436:356–62.
296. Ost A, Danielsson A, Lidén M, Eriksson U, Nystrom FH, Strålfors P. Retinol-binding protein-4 attenuates insulin-induced phosphorylation of IRS1 and ERK1/2 in primary human adipocytes. *FASEB J.* 2007;21:3696–704.
297. Axelsson J, O'Byrne SM, Blaner WS, Carrero JJ, Bruchfeld A, Heimbürger O, Bárány P, Lindholm B, Stenvinkel P. Serum retinol-binding protein concentration and its association with components of the uremic metabolic syndrome in nondiabetic patients with chronic kidney disease stage 5. *Am J Nephrol.* 2009;29:447–53.
298. Kalantar-Zadeh K, Kopple JD. Trace elements and vitamins in maintenance dialysis patients. *Adv Ren Replace Ther.* 2003;10(3):170-82.
299. Cundy T, Earnshaw M, Heynen G, Kanis JA. Vitamin A and hyperparathyroid bone disease in uremia. *AJCN* 1983;38(6):914-20.
300. Ziegelmeier M, Bachmann A, Seeger J, Lossner U, Kratzsch J, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of adipokine retinol-binding protein-4 in relation to renal function. *Diabetes Care.* 2007;30(10):2588-92.
301. Kalousová M, Kubena AA, Kostířová M, Vinglerová M, Ing OM, Dusilová-Sulková S, Tesar V, Zima T. Lower retinol levels as an independent predictor of mortality in long-term hemodialysis patients: a prospective observational cohort study. *AJKD* 2010;56(3):513-21.
302. Banh L. Serum proteins as markers of nutrition: What are we treating? *Practical Gastroenterology.* 2006;30(10):46-64.
303. Axelsson J, Qureshi AR, Divino-Filho JC, Bárány P, Heimbürger O, Lindholm B, Stenvinkel P. Are insulin-like growth factor and its binding proteins 1 and 3 clinically useful as markers of malnutrition, sarcopenia and inflammation in end-stage renal disease? *Eur J Clin Nutr.* 2006;60(6):718-26.
304. Jia T, Gama Axelsson T, Heimbürger O, Bárány P, Lindholm B, Stenvinkel P, Qureshi AR. IGF-1 and Survival in ESRD. *CJASN* 2014; 9(1):120–7.
305. Trobec K, von Haehling A, Anker SD, Lainscak M. Growth hormone, insulin-like growth factor 1, and signaling – a pharmacological target in body wasting and cachexia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2011;2:191–200.
306. Garibotto G, Russo R, Sofia A, Ferone D, Fiorini F, Cappelli V, Tarroni A, Gandolfo MT, Vigo E, Valli A, Arvigo M, Verzola D, Ravera G, Minuto F. Effects of uremia and inflammation on growth hormone resistance in patients with chronic kidney diseases. *Kidney Int.* 2008; 74:937–45.
307. Pupim LB, Flakoll PJ, Yu C, Ikizler TA. Recombinant human growth hormone improves muscle amino acid uptake and whole-body protein metabolism in chronic hemodialysis patients. *AJCN* 2005;82:1235–43.
308. Kotzmann H, Yilmaz N, Lercher P, Riedl M, Schmidt A, Schuster E, Kreuzer S, Geyer G, Frisch H, Hörl WH, Mayer G, Luger A. Differential effects of growth

- hormone therapy in malnourished hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2001; 60:1578–85.
309. Niemczyk S, Sikorska H, Wiecek A, Zukowska-Szzechowska E, Zalecka K, Gorczyńska J, Kubik M, Czerwieńska B, Gosek K, Veldhuis JD, Wagner DA, Gaudreau P, Hakonen T, Kay SW, Jouhikainen T, Schaefer F. A super-agonist of growth hormone-releasing hormone causes rapid improvement of nutritional status in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2010;77:450–8.
  310. Kopple JD, Cheung AK, Christiansen JS, Djurhuus CB, El Nahas M, Feldt-Rasmussen B, Mitch WE, Wanner C, Göthberg M, Ikizler TA. OPPORTUNITY: a large-scale randomized clinical trial of growth hormone in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26:4095–103.
  311. Davis L, Britten JJ, Morgan M. Cholinesterase. Its significance in anaesthetic practice. *Anaesthesia.* 1997;52:244–60.
  312. Stojanov MD, Jovicić DM, Djurić SP, Konjević MM, Todorović ZM, Prostran MS. Butyrylcholinesterase activity and mortality risk in hemodialysis patients: comparison to hsCRP and albumin. *Clin Biochem.* 2009;42(1-2):22-6.
  313. Santarpia L, Grandone I, Contaldo F, Pasanisi F. Butyrylcholinesterase as a prognostic marker: a review of the literature. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2013;4:31–9.
  314. Sulzgruber P, Koller L, Reiberger T, ElHamid F, Forster S, Rothgerber D-J, Goliash G, Wojta J, Niessner A. Butyrylcholinesterase Predicts Cardiac Mortality in Young Patients with Acute Coronary Syndrome. *PLoS ONE* 2015;10(5):e0123948.
  315. Distelmaier K, Winter MP, Rützler K, Heinz G, Lang IM, Maurer G, Koinig H, Steinlechner B, Niessner A, Goliash G. Serum butyrylcholinesterase predicts survival following extracorporeal membrane oxygenation after cardiovascular surgery. *Crit Care.* 2014;18(1):R24.
  316. Kumar N, Michelis MF, De Vita MV, Panagopoulos G, Rosenstock JL. Troponin I levels in asymptomatic patients on hemodialysis using a high-sensitivity assay. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26:665–70.
  317. Task force for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European society of cardiology (ESC). 2015 ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J.* 2016;37:267–315.
  318. Stacy SR, Suarez-Cuervo C, Berger Z, Wilson LM, Yeh HC, Bass EB, Michos ED. Role of troponin in patients with chronic kidney disease and suspected acute coronary syndrome. *Ann Intern Med.* 2014;161:502–12.
  319. Alam A, Palumbo A, Mucsi I, Barré PE, Sniderman AD. Elevated troponin I levels but not low grade chronic inflammation is associated with cardiac-specific mortality in stable hemodialysis patients. *BMC Nephrol.* 2013;214:47.
  320. Wallenborn J, Marx A, Störk S, Güder G, Brenner S, Ertl G, Angermann CE. Prognostic significance of serial high-sensitivity troponin I measurements following acute cardiac decompensation-correlation with longer-term clinical outcomes and reverse remodelling. *Int J Cardiol.* 2017; 1;232:199-207.
  321. Cavender MA, White WB, Jarolim P, Bakris GL, Cushman WC, Kupfer S, Gao Q, Mehta CR, Zannad F, Cannon CP, Morrow DA. Serial Measurement of High-Sensitivity Troponin I and Cardiovascular Outcomes in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus in the EXAMINE Trial (Examination of Cardiovascular Outcomes With Alogliptin Versus Standard of Care). *Circulation.* 2017;135(20):1911-21.

## **Biografija**

Tanja Antunović je rođena 17.05.1979. u Dubrovniku, Republika Hrvatska. Osnovno i srednjoškolsko obrazovanje stekla je u Herceg Novom, Crna Gora. Na Farmaceutski fakultet u Beogradu, smjer medicinska biohemija, upisala se školske 1997/98. godine, a diplomirala je 24.09.2004. godine.

Stručni ispit je nakon obavljenog jednogodišnjeg pripravničkog staža položila 2006. godine i do jula 2008. godine radila je u laboratoriji Instituta „Dr Simo Milošević“ u Igalu. Od jula 2008. godine stalno je zaposlena u Centru za kliničko laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog centra Crne Gore u Podgorici. Školske 2008/09. godine upisana je na specijalističke studije za zdravstvene radnike i zdravstvene saradnike iz oblasti Medicinska biohemija na Farmaceutskom fakultetu u Beogradu. Specijalistički ispit odbranila je 2011. godine. 2015. godine upisana je na užu specijalizaciju iz oblasti Klinička imunohemija na Farmaceutskom fakultetu u Beogradu. Završni ispit odbranila je 2016. godine. Na mjesto načelnika Odjeljenja za biohemijску dijagnostiku Centra za kliničko laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog centra Crne Gore postavljena je 2017. godine.

Do sada je publikovala tri naučna rada u međunarodnim časopisima. Učestvovala je na naučnim i stručnim skupovima u zemlji i inostranstvu gdje je kao usmena izlaganja ili posterske prezentacije predstavljala svoj istraživački rad.

## Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Тања Антуновић

Број индекса 37/15

### Изјављујем

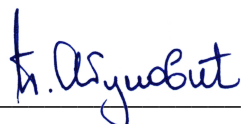
да је докторска дисертација под насловом

Биохемијски параметри оксидативног, нутритивног и инфламаторног статуса у предикцији морталитета код пацијената на хемодијализи

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 25.01.2018.



## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Тања Антуновић

Број индекса 37/15

Студијски програм Медицинска биохемија

Биохемијски параметри оксидативног, нутритивног и инфламаторног  
Наслов рада статуса у предикцији морталитета код пацијената на хемодијализи

Ментор проф. др Марина Стојанов

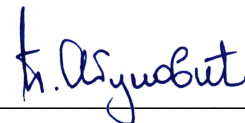
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис аутора**

У Београду, 25.01.2018.



## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Биохемијски параметри оксидативног, нутритивног и инфламаторног статуса у предикцији морталитета код пацијената на хемодијализи

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

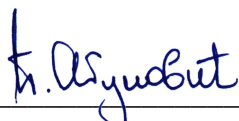
1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

У Београду, 25.01.2018.

Потпис аутора

  
\_\_\_\_\_

1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.